

Aus dem Zentrum für Innere Medizin

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie
bei Kaninchen durch Infusion von
D-Galaktosamin

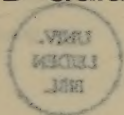
vorgelegt von
Reuter, Clemens
aus Heldenbergen

1974

Aus dem Zentrum für Innere Medizin

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen**

**Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie
bei Kaninchen durch Infusion von
D-Galaktosamin**



**vorgelegt von
Reuter, Clemens
aus Heldenbergen**

1974



Dekan: Prof. Dr. D. Ringleb
Referent: Prof. Dr. G. Müller-Berghaus
Korreferent: Prof. Dr. L. Ròka

A Einleitung

- | | |
|---|---|
| 1. Erläuterungen zur Verbrauchskoagulopathie | 1 |
| 2. Beziehungen zwischen akuten Lebererkrankungen
und Verbrauchskoagulopathie | 3 |
| 3. Die Galaktosaminhepatitis | 4 |
| 4. Fragestellung | 6 |

B Material und Methoden

- | | |
|---|----|
| 1. Substanzen | 8 |
| 2. Tiere | 8 |
| 3. Blutabnahmen | 9 |
| 4. Infusionen | 9 |
| 5. Sektion | 10 |
| 6. Gerinnungsanalytische Untersuchungen | 10 |
| 7. Klinisch-chemische Untersuchungen | 14 |
| 8. Histologische Methoden | 15 |
| 9. Statistische Methoden | 15 |
| 10. Versuchsanordnung | 17 |

C Ergebnisse**I. Veränderungen der Leberfunktion, des Gerinnungssystems und der Morphologie bei Kaninchen nach Galaktosamininfusion**

- | | |
|--|----|
| 1. Veränderungen der Leberfunktion | 19 |
| 2. Veränderungen des Gerinnungssystems | 22 |
| 3. Morphologische Veränderungen | 31 |
| 4. Diskussion | 33 |

II. Wirkung von Epsilon-Aminocapronsäure auf die durch Galaktosamin ausgelösten Veränderungen der Leberfunktion, des Gerinnungssystems und der Morphologie bei Kaninchen

	Seite
1. Veränderungen der Leberfunktion	34
2. Veränderungen des Gerinnungssystems	38
3. Morphologische Veränderungen	41
4. Diskussion	44
 III. Der Effekt einer Heparinbehandlung auf die durch Galaktosamin ausgelösten Veränderungen der Le- berfunktion, des Gerinnungssystems und der Mor- phologie bei Kaninchen	
1. Veränderungen der Leberfunktion	45
2. Veränderungen des Gerinnungssystems	48
3. Morphologische Veränderungen	51
4. Diskussion	52
D <u>Zusammenfassende Diskussion</u>	55
E <u>Zusammenfassung</u>	61
F <u>Literaturverzeichnis</u>	63
G <u>Anhang: Einzelwerte der Untersuchungen</u>	72

A Einleitung

1. Erläuterungen zur Verbrauchskoagulopathie

Unter dem Terminus "Verbrauchskoagulopathie", der von LASCH (1959) eingeführt wurde, versteht man eine erworbene Gerinnungsstörung, die durch einen gesteigerten Umsatz der zellulären (Thrombocyten) und plasmatischen Gerinnungskomponenten mit fakultativ sekundärer Fibrinolysesteigerung gekennzeichnet ist. Die Verbrauchskoagulopathie stellt kein Krankheitsbild sui generis dar, sondern ein Syndrom, das durch viele ätiologisch unterschiedliche Faktoren ausgelöst werden kann (McKAY 1964, MÜLLER-BERGHAUS 1969). Diese Faktoren (s. Tab. 1) vermögen über Auslösemechanismen, die im Einzelnen noch nicht geklärt sind, das Gerinnungssystem zu aktivieren, so daß es zu einer überschießenden intravasalen Gerinnung kommt, die zu einem Verbrauch aller Gerinnungsfaktoren führt. Die Folge ist eine Ungerinnbarkeit oder Hypokoagulabilität des Blutes, die sich in schweren Blutungen äußern kann.

Tabelle 1: Ätiologische Faktoren für intravasale Gerinnungsprozesse

1. Bakteriellcs Endotoxin
2. Intravasale Hämolyse
3. Antigen-Antikörper-Komplexe
4. Gewebethromboplastin
5. Partikuläre Substanzen
6. Hypozirkulation
7. Endothelschaden
8. Proteolytische Substanzen

aus: MÜLLER-BERGHAUS, G.: Zur Pathophysiologie der Verbrauchskoagulopathie. Bibl. haemat. 32, 257 (1969).

In einigen Fällen einer abgelaufenen Verbrauchskoagulopathie kann histologisch Fibrin in Lunge, Leber, Niere, Nebenniere, Milz, Haut, Gehirn und Darm nachgewiesen werden (BOHLE 1959). Wegen des gleichzeitigen Bestehens einer Blutungsneigung und des Auftretens von Gerinnseln, scheinbar sich widersprechende Symptome in der klassischen Gerinnungslehre, wird diese Gerinnungsstörung auch als "Thrombohämorrhagisches Phänomen" (SELYE 1965) bezeichnet. Da es sich bei einer Verbrauchskoagulopathie im Gegensatz zu lokalem thrombotischen Geschehen um eine disseminierte, d. h. in vielen Gefäßprovinzen ablaufende intravasale Gerinnung handelt, spricht man auch von "Disseminierter intravasaler Gerinnung" (McKAY 1964). Die Termini Verbrauchskoagulopathie, Thrombohämorrhagisches Phänomen und Disseminierte intravasale Gerinnung werden synonym gebraucht.

Bei einer Verbrauchskoagulopathie kommt es fast immer zu einer gesteigerten Fibrinolyse (MERSKEY et al. 1966, 1967). Diese kann gebildetes Fibrin wieder auflösen und somit dem histologischen Nachweis entziehen. Dies erklärt, warum nicht in jedem Fall einer Verbrauchskoagulopathie Fibrin als morphologisches Substrat nachgewiesen werden kann (McKAY und MÜLLER-BERGHAUS 1967).

Das am besten untersuchte Modell einer Verbrauchskoagulopathie ist das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (SANARELLI 1894). Das klassische Sanarelli-Shwartzman-Phänomen läßt sich bei Kaninchen durch zweimalige im Abstand von ca. 24 Stunden erfolgende intravenöse Injektionen von Endotoxin gramnegativer Bakterien hervorrufen. Dabei kommt es zu einer hämorrhagischen Diathese, als deren Ursache eine Verbrauchskoagulopathie angesehen wird (LASCH et al. 1961, 1967).

Bleiben die Tiere lange genug nach der Zweitinjektion am Leben, so entwickelt sich eine bilaterale Nierenrindennekrose, die durch einen Verschuß der Glomerulumkapillaren mit fibrinreichem Material verursacht wird (THOMAS und GOOD 1952, McKAY und SHAPIRO 1958). Heute definiert man das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen als disseminierten intravasalen Gerinnungsprozess, der zum Verschuß der Glomerulumkapillaren mit fibrinreichen Präzipitaten führt. Nur wenn der Verschuß

der Glomerulumkapillaren lange genug bestehen bleibt, kommt es zum Vollbild des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens mit doppelseitiger Nierenrindennekrose (McKAY 1968).

Da es sich bei der Verbrauchskoagulopathie um eine intravasale Gerinnung handelt, kann dieser Prozeß durch die Applikation von Antikoagulantien wie z. B. Heparin unterbrochen werden (GOOD und THOMAS 1953, SHAPIRO und McKAY 1958, LITTLE 1959, LASCH et al. 1961, 1967, LASCH 1964).

2. Beziehungen zwischen akuten Lebererkrankungen und Verbrauchskoagulopathie

Bei Lebererkrankungen werden Gerinnungsstörungen beobachtet, die bei besonders schweren Formen zu einer hämorrhagischen Diathese führen können. Diese Störungen im Gerinnungssystem sind zum größten Teil durch eine verminderte Synthese plasmatischer Gerinnungsfaktoren bedingt (DEUTSCH 1965, SPECTOR et al. 1967, DONALDSON et al. 1969). Neuere Untersuchungen legen den Verdacht nahe, daß bei akuten hepatozellulären Erkrankungen zusätzlich zur Bildungsstörung der Gerinnungsfaktoren eine Umsatzstörung im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie auftreten kann (RAKE et al. 1970, 1971, CLARK et al. 1972, GAILLUS et al. 1972, RAKE et al. 1973). RAKE et al. (1970) beobachteten bei 8 von 13 Patienten mit akuter Leberzellnekrose infolge einer fulminanten Virushepatitis Thrombocytenabnahmen unter $100\,000/\text{mm}^3$. Diese Thrombocytenabnahmen konnten von anderen Autoren bestätigt werden. Außerdem wurde ein Aktivitätsabfall aller Gerinnungsfaktoren bei Patienten mit akuter Hepatitis festgestellt (GAILLUS et al. 1972). Radioaktiv markiertes Human-Fibrinogen zeigte bei den Patienten mit akutem Leberzellschaden eine deutliche Verkürzung der Halbwertszeit im Vergleich zu einer Kontrollgruppe kompensierter Cirrhotiker. Die Applikation von Heparin bewirkte eine Verlängerung der Halbwertszeit des injizierten

radioaktiv markierten Human-Fibrinogens im Gegensatz zu den Patienten, denen kein Heparin verabreicht worden war. Bei einem Patienten stieg die Halbwertszeit von 32 Stunden vor auf 90 Stunden nach der Heparinbehandlung an (RAKE et al. 1970). Ähnliche Befunde konnten später experimentell bei Ratten mit akutem Leberzellschaden infolge einer Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung erhoben werden (RAKE et al. 1973).

Fibrin wurde allerdings nur in den Lebersinusoiden der Ratten gefunden. In anderen Organen fanden sich keine Mikrogerinnsel.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen zwar an die Möglichkeit einer Verbrauchskoagulopathie bei akutem Leberzellschaden denken, eine Unterscheidung zwischen Bildungsstörung plasmatischer Gerinnungsfaktoren und Umsatzstörung im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie ist jedoch durch die geschilderten Befunde allein nicht möglich. Um eindeutig zwischen diesen beiden unterscheiden zu können, wäre der Nachweis von Mikrogerinnseln außerhalb der Leber wichtig.

3. Die Galaktosaminhepatitis

Bei Untersuchungen über den Hexosaminstoffwechsel von Ratten entdeckten DECKER, KEPPLER, LESCH und REUTTER 1968, daß der Aminosucker D-Galaktosamin (Chondrosamin) in der Lage ist, bei Versuchstieren eine Leberschädigung auszulösen, die in ihrem klinisch-chemischen und morphologischen Verhalten der menschlichen Virushepatitis vergleichbar ist. Nach intraperitonealer Applikation von D-Galaktosamin-HCl kam es bei den Versuchstieren nach wenigen Stunden zu einem deutlichen Anstieg der Serumaktivitäten leberspezifischer Enzyme (GPT, GOT, GIDH). Der Gesamtbilirubingehalt im Serum war ebenfalls signifikant erhöht. Die Synthesestörung der Leber zeigte sich in einem Abfall des Gesamtproteingehaltes im Serum. Die Leber der getöteten Tiere wies eine verminderte Konsistenz auf, wie sie von der akuten, gelben Leberdystrophie des Menschen bekannt ist. Das relative Lebergewicht hatte gegenüber der

Kontrollgruppe deutlich abgenommen. Die histologische Untersuchung erbrachte die morphologischen Kriterien einer menschlichen Virushepatitis: Die Leberzellen variierten in ihrer Größe und zeigten zum großen Teil einen Glykogenverlust. Viele Zellen wiesen eine verstärkte Eosinophilie auf. Weiterhin konnten sogenannte "Councilman-bodies" nachgewiesen werden, die nekrotischen, verdämmernden Hepatocyten entsprechen. Diese Councilman-bodies werden auch bei der Virushepatitis des Menschen beobachtet (BENDA 1949). Es bestand außerdem eine entzündliche Infiltration der periportalen Felder sowie der Leberzellnekrosen mit segmentierten Neutrophilen, Lymphocyten, Plasmazellen und Histiocyten. Die Kupffer'schen Sternzellen waren vermehrt und vergrößert. Auffallend war auch die relative Mitosearmut. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten eine Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Reticulums und cytoplasmatische Einschlüsse von Plasmaproteinen, ein Befund, der bei einer Virushepatitis nicht vorkommt (MEDLINE et al. 1970). Die Galaktosaminhepatitis konnte neben der intraperitonealen auch durch intravenöse und subcutane Applikation erzeugt werden.

Die Wirkungsweise des D-Galaktosamin auf die Leberzelle wird folgendermaßen gedeutet (Abb. 1): Das von der Leberzelle aufgenommene Galaktosamin (GalN) wird wegen der Unspezifität der Enzyme des Galaktosestoffwechsels in Galaktosamin-1-Phosphat (GalN-I-P) übergeführt und anschließend mittels Uridin-Diphosphoglucose (UDP G) in Uridin-Diphosphogalaktosamin (UDP-GalN) umgewandelt. Diese Substanz wird durch eine Epimerase zu Uridin-Diphosphoglucosamin (UDP-GlcN) epimerisiert. Die letztgenannte Verbindung kann aber nicht als Uridyl-Donator für die Uridyl-Transferasereaktion dienen. Der dadurch bedingte Mangel an UDP-Glucose und UDP-Galaktose bewirkt eine Synthesestörung der Zellmembranen, da der Zuckeranteil dieser Strukturen nicht mehr ausreichend gebildet werden kann. Außerdem kommt es durch den Mangel an Uracil zu einer Hemmung der Ribonucleinsäuresynthese (DECKER, KEPPLER 1972).

Die Ähnlichkeit der Galaktosaminhepatitis mit der Virushepatitis des

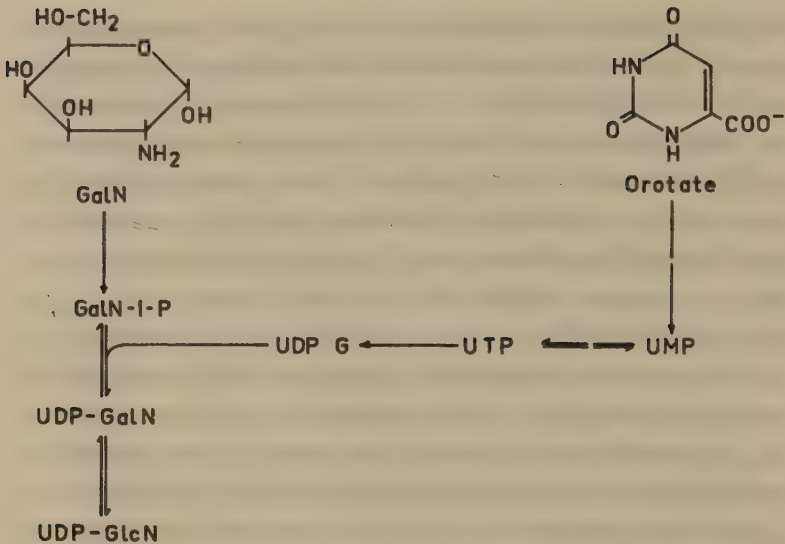


Abb. 1: Wirkungsweise des D-Galaktosamin

Aus: DECKER, K., KEPPLER, D.: Galactosamine-induced liver injury. In: Progress in Liver Disease 4, 183 (1972)
 POPPER, H., SCHAFFNER, F. (Edts.)

Menschen sowie ihre leichte Auslösbarkeit lassen sie als tierexperimentelles Modell eines akuten, diffusen Leberzellschadens mit fokalen Nekrosen geeignet erscheinen (KEPPLER, DECKER 1968, MEDLINE et al. 1970).

4. Fragestellung

Wie die Untersuchungen von RAKE et al. (1970) und GALLUS et al. (1972) zeigen, ist bei Vorliegen einer Synthesestörung plasmatischer Gerinnungsfaktoren infolge eines akuten Leberzellschadens bei Patienten nicht zu klären, welchen Anteil eine Verbrauchskoagulopathie am Zu-

standekommen einer hämorrhagischen Diathese hat. Deshalb wollten wir an dem tierexperimentellen Modell der Galaktosaminhepatitis die pathogenetischen Mechanismen für die Entstehung einer hämorrhagischen Diathese bei akutem Leberzellschaden untersuchen. Es sollte die Hypothese, daß bei akutem Leberzellschaden eine Verbrauchskoagulopathie auftreten kann bewiesen oder widerlegt werden.

Folgende Fragestellungen wurden im Einzelnen in der vorliegenden Arbeit untersucht:

1. Welche gerinnungsanalytischen Veränderungen treten im Verlauf der Galaktosaminhepatitis auf, und lassen sich daraus Schlußfolgerungen für die Entstehung einer Verbrauchskoagulopathie ziehen?
2. Lassen sich fibrinreiche Mikrogerinnsel als morphologisches Substrat der Verbrauchskoagulopathie nachweisen?
3. Welche gerinnungsanalytischen und morphologischen Veränderungen werden im Verlauf einer Galaktosaminhepatitis bei gleichzeitiger Hemmung einer Fibrinolyseaktivierung beobachtet?
4. Welche gerinnungsanalytischen und morphologischen Veränderungen treten im Verlauf einer Galaktosaminhepatitis bei gleichzeitiger Hemmung einer Gerinnungsaktivierung auf?

B Material und Methoden

1. Substanzen

Galaktosamin

D-Galaktosamin-HCl (puriss.) der Fa. C. Roth, Karlsruhe, ein weißes, kristallines Pulver, wurde täglich frisch in sterilem, pyrogenfreien destillierten Wasser aufgelöst, so daß die zu verabreichende Dosis in einem Gesamtvolumen von 4,8 ml enthalten war. Durch Zusatz von 1n NaOH wurde die saure Lösung neutralisiert und anschließend sofort infundiert.

Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA)

Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) wurde von der Deutschen Hoffman-La Roche AG Grenzach, Baden, bezogen. Die sterile, in Ampullen abgefüllte, klare Lösung enthielt 2 gr der Substanz in 5 ml Flüssigkeit. Für die Infusion wurde diese konzentrierte Lösung mit steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Heparin

Liquemin der Deutschen Hoffman-La Roche AG Grenzach, Baden, wurde in 5 ml-Flaschen bezogen, die 5000 USP-Einheiten pro ml enthielten. Mit steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung wurden Infusionslösungen der benötigten Konzentration hergestellt.

2. Tiere

Versuche wurden an männlichen und nicht trächtigen weiblichen Kaninchen durchgeführt (gemischtrassige Neuseeländer, die von örtlichen Züchtern bezogen wurden). Das Gewicht der Tiere, die mit einem

standardisierten Futter (Altromin der Fa. Lago, Lippe) und Wasser ad libitum gefüttert wurden, lag zwischen 1,7 und 2,2 kg.

3. Blutabnahmen

Einen Tag vor Versuchsbeginn wurde den Tieren in Lokalanästhesie (Scandicain) ein silikonierter Polyäthylenkatheter in die rechte V. jugularis bis in die V. cava inferior eingeführt und durch einen subcutanen Kanal an der Ohrwurzel herausgeleitet. Mit Nebacetin-Puder wurde eine lokale Infektionsprophylaxe betrieben. Mit Hilfe dieses Jugularvenenkatheters konnte hämolysefreies Blut zur Analyse gewonnen werden, das über einen silikonierten Verbindungsschlauch direkt in gleichfalls silikonierte Zentrifugengläser geleitet wurde.

Blutabnahmen erfolgten direkt vor Beginn der Infusionen, sowie 6, 12 und, sofern die Tiere noch am Leben waren, 24 Stunden nach Versuchsbeginn. Pro Blutabnahme wurden 12 ml Blut (5 ml Citratblut, 5 ml zur Serumgewinnung, 2 ml für den Staphylococcal-clumping-Test) gewonnen und dasselbe Volumen steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung langsam injiziert.

4. Infusionen

Kurz vor Versuchsbeginn wurde die marginale Vene des linken Ohres mit einer Kanüle anpunktiert und durch diese Perforation ein dünn ausgezogener Polyäthylenkatheter von etwa 10-15 cm Länge in die Vene eingeführt, durch den die Infusionen erfolgten. Dieses Verfahren ermöglichte Infusionen über einen längeren Zeitraum, ohne die Tiere in Daueranästhesie halten zu müssen.

Die Infusionen wurden mit Hilfe einer Infusionspumpe (Perfusor der Fa. Braun, Melsungen) durchgeführt, die eine exakte Dosierung des

Infusionsvolumens und damit der applizierten Substanzen gestattet. 4,8 ml Galaktosaminlösung wurden über einen Zeitraum von 30 min. infundiert, Epsilon-Aminocaprinsäure und Heparin in einem Volumen von 6 ml pro Stunde bis zum Tod der Tiere gegeben.

5. Sektion

Überlebende Tiere wurden durch eine Überdosis von Pentobarbital-Na (Nembutal) nach der 24-Stunden-Blutentnahme getötet. Die Sektion der Tiere wurde direkt im Anschluß an den Tod der Tiere ausgeführt. Bei der Sektion wurden neben der Beachtung makropathologischer Befunde die Organe Lunge, Leber, Milz, Niere und Nebenniere zur histologischen Untersuchung vorbereitet. Die Organe wurden in 5% iger gepufferter Formaldehydlösung fixiert. Zugleich wurden Stückchen der genannten Organe ohne Fixierung bei -20°C eingefroren.

6. Gerinnungsanalytische Untersuchungen

Alle gerinnungsanalytischen Untersuchungen wurden mit Citratblut durchgeführt. Citratblut wurde folgendermaßen hergestellt: In ein silikontiertes Zentrifugenröhrchen wurden 0,5 ml 3,8% ige Na-Citratlösung, der zur Verhinderung spontaner Fibrinolyse 500 KIE Trasylol zugesetzt waren, vorgelegt, 4,5 ml hämolysefreies Venenblut aus dem Jugularvenenkatheter zugegeben und vorsichtig durchgemischt.

Zählung der Thrombocyten

Die Thrombocyten wurden direkt im Phasenkontrastmikroskop nach der Methode von BRECHER und CRONKITE (1950) mit einer 400-fachen Vergrößerung gezählt. Als hämolsierende Verdünnungslösung wurde 3% ige Cocainchloridlösung verwendet. Die Zählung erfolgte in der

THOMA-Zählkammer nach 10-minütiger Sedimentation in der feuchten Kammer. Die ausgezählten Werte beider Kammern wurden addiert und mit dem Faktor 1000 multipliziert. Die erhaltenen Werte wurden mit dem Antikoagulantienfaktor korrigiert, um so die Verdünnung des Blutes mit Citratlösung zu berücksichtigen.

Bestimmung des Fibrinogengehaltes

Der Fibrinogengehalt wurde nach der Methode von JACOBSSON (1955) bestimmt.

Ausführung: 0,5 ml Citratplasma wurden mit 0,2 ml EDTA-Lösung versetzt und bei -20°C eingefroren. Bei der Bestimmung wurde dieses Plasma durch eine gereinigte Thrombinlösung (Topostasin) in einer Imidazol-HCl-Pufferlösung mit einem p_{H} -Wert von 6,4 eine Stunde bei 37°C ausgeronnen. Das entstandene Gerinnsel wurde mit einem Glasstab isoliert und nacheinander je 30 min. mit physiol. Kochsalzlösung und destilliertem Wasser gewaschen. Das gewaschene Gerinnsel wurde anschließend in 5 ml 6-molarer Harnstofflösung aufgelöst, dieser Ansatz im Zeiss-Photometer (PM 4, 278 nm, Spaltbreite 10) in 1 cm-Quarzküvetten gegen einen Leerwert gemessen. Die ermittelten Extinktionen wurden anhand einer Eichkurve (Extinktionskoeffizient $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 16,17$) in mg% Fibrinogen umgerechnet. Dieser Wert wurde ebenfalls mit dem Antikoagulantienfaktor korrigiert.

Thrombelastographie (TEG)

Die Thrombelastographie wurde nach dem von HARTERT (1951) angegebenen Verfahren durchgeführt. In ein silikoniertes Zentrifugenröhrchen wurden 0,4 ml 0,025 molarer CaCl_2 -Lösung vorgelegt und 0,8 ml Citratblut mittels einer silikonierten Pipette zugegeben. Nach dreimaligem Durchmischen wurden 0,4 ml dieses rekalkifizierten Vollblutes in die vorgewärmte TEG-Küvette gegeben, der Stempel eingetaucht und mit Paraffin überschichtet, um ein Austrocknen des Ansatzes zu vermeiden. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnte der Gerinnungsablauf kymographisch

registriert werden. Folgende Werte wurden aus dem Film ermittelt:

1. Reaktionszeit (r) : Die Zeit vom Beginn der Rekalzifizierung bis zu einem Ausschlag der Amplitude von 1 mm.
2. Gerinnselbildungszeit (k) : Die Zeit vom Ende der Reaktionszeit bis zu einer Amplitude von 20 mm.
3. Maximale Amplitude (M_E) : Der weiteste Abstand beider Kurvenschenkel in mm.

Bestimmung der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT)

Für diese Bestimmung, die nach PROCTER und RAPOPORT (1961) ausgeführt wurde, sind käufliche Reagenzien der Behringwerke, Marburg, verwendet worden. 0,2 ml Citratplasma wurden mit 0,2 ml des PTT-Reagenz (Kaolin und gereinigter Plättchenfaktor 3) 2 min. bei 37°C in einem Glasröhrchen inkubiert. Anschließend wurden 0,2 ml einer auf 37°C vorgewärmten 0,025 molaren Calciumchloridlösung zugegeben und der Gerinnungseintritt mit der Häkchenmethode bestimmt. Die Partielle Thromboplastinzeit wird in Sekunden angegeben.

Bestimmung der Prothrombinaktivität

Die Prothrombinaktivität wurde in einer modifizierten Einstufenmethode nach SCHULZE und SCHWICK (1953) mit käuflichen Reagenzien der Behringwerke, Marburg, bestimmt.

Prinzip: Beim Mischen des zu untersuchenden Plasmas mit einem Faktor II-Mangelplasma und Zusatz von Thromboplastin erfolgt der Gerinnungseintritt umso schneller, je größer der Gehalt des untersuchten Plasmas an Faktor II ist.

Ausführung: Citratplasma wird mit Diaethylbarbiturat-Acetatpufferlösung 1:10 verdünnt. 0,1 ml dieses verdünnten Plasmas werden mit 0,1 ml des Faktor II-Mangelplasmas in einem vorgewärmten Glasröhrchen 30 Sekunden bei 37°C inkubiert. Danach Zugabe von 0,2 ml einer gleichfalls vorgewärmten Calcium-Thromboplastinlösung und Bestimmung des

Gerinnungseintritts mit dem Platinhäkchen. Die Umrechnung der gemessenen Gerinnungszeit in % der Normalaktivität erfolgte mit Hilfe einer Eichkurve.

Eichkurvenerstellung: Citratplasma 5 gesunder Kaninchen wurde mit Diaethylbarbiturat-Acetatpufferlösung im Verhältnis 1:5 (200 %), 1:10 (100 %), 1:20 (50 %), 1:40 (25 %), 1:80 (12,5 %) verdünnt. Die Gerinnungszeiten dieser Verdünnungen wurden dreimal nach der oben angegebenen Weise bestimmt. Auf doppellogarithmischem Papier wurden die Mittelwerte der 3 Bestimmungen gegen die Verdünnungsstufen aufgetragen. Die Eichkurvenerstellung erfolgte für jede Charge des Faktor II-Testbesteckes.

Bestimmung der Faktor V-Aktivität

Die Faktor V-Aktivität wurde ebenfalls in der von SCHULZE und SCHWICK (1953) angegebenen modifizierten Einstufenmethode mit käuflichen Reagenzien der Behringwerke, Marburg, ermittelt. Das Prinzip dieser Bestimmung ist dasselbe wie bei der Ermittlung der Prothrombinaktivität. Die Ausführung erfolgte in ähnlicher Weise, nur daß hier das zu untersuchende Plasma mit Diaethylbarbiturat-Acetatpufferlösung im Verhältnis 1:20 verdünnt wurde. Bei der Eichkurvenerstellung wurde diese 1:20-Verdünnung gleich 100 % Faktor V-Aktivität gesetzt. Da die in oben beschriebener Weise ermittelten Eichkurven für den Faktor V aber eine zu geringe Steigung hatten, wurde bei der Umrechnung jeder Ausgangswert eines Tieres gleich 100 % Faktor V-Aktivität gesetzt, und die Eichkurve durch diesen Punkt parallel verschoben. Für jede Charge des Faktor V-Testbesteckes wurde eine Eichkurve ermittelt.

7. Klinisch-chemische Untersuchungen

Bestimmung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) - Aktivität im Serum

Die Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase im Serum erfolgte nach dem von WROBLEWSKI und LA DUE (1956) angegebenen Verfahren. Dazu wurden käufliche Reagenzien der Fa. Boehringer, Mannheim, (GPT-Monotest-10), verwendet. Der Inhalt eines Monotest-Fläschchens zur Bestimmung der GPT-Aktivität wurde mit 30 ml destilliertem Wasser aufgelöst und bei 25°C inkubiert. Drei ml dieser Lösung wurden in einer 1 cm-Glasküvette mit 0,5 ml Serum gemischt, und diese in eine auf 25°C eingestellte, heizbare Küvettenhalterung gestellt. Im Eppendorf-Photometer bei 366 nm wurden die Extinktionen nach 1, 2, 3 Minuten registriert. Die ermittelte Extinktionsabnahme pro Minute wurde mit Hilfe einer Tabelle (Faktor 2121) in mU/ml umgerechnet. Ein Milliunit ist definiert als der Quotient von 1 Nanomol Substrat/Minute.

Bestimmung des Bilirubingehaltes

Der Gesamtbilirubingehalt im Serum wurde in der von JENDRASSIK und GRÖF (1938) beschriebenen Weise als Mikromethode mit käuflichen Reagenzien der Fa. Boehringer, Mannheim (Biochemica-Test) gemessen. Der Ansatz wurde im Eppendorf-Photometer bei 578 nm in Halbmikroküvetten gegen einen Leerwert gemessen, die ermittelte Extinktion mit dem Faktor 5,94 multipliziert.

Bestimmung des Hämatokrits

Citratblut wurde in Kapillarröhrchen der Fa. Clay-Adams, New York, N. Y., USA aufgezogen, in einer Hämatokrit-Zentrifuge scharf zentrifugiert und der abgelesene Hämatokrit-Wert mit dem Antikoagulantien-

faktor korrigiert.

8. Histologische Methoden

Hämatoxylin-Eosin (HE) -Färbung

Die in 5 %iger gepufferter Formaldehydlösung fixierten Organe wurden nach Entwässerung in der steigenden Alkoholreihe in Paraplast der Fa. Shandon, Frankfurt, eingebettet, die 4 Mikrometer dicken Schnitte in typischer Weise mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Dimethylaminobenzaldehydnitrit-Reaktion

Zum histochemischen Nachweis von Fibrin durch Darstellung von Tryptophan wurde die Dimethylaminobenzaldehydnitrit-Reaktion nach ADAMS (1957) herangezogen.

Immunofluoreszenztechnik

Auf -20°C tiefgefrorene Organe wurden mittels eines Kältemikrotoms geschnitten. Die 7,5 Mikrometer dicken Schnitte wurden mit Anti-Kaninchen-Fibrinogen der Behringwerke, Marburg, entsprechend der Methode nach GITLIN et al. (1957) überschichtet. Nach Lufttrocknung wurden die Schnitte im Fluoreszenzmikroskop untersucht.

9. Statistische Methoden

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe der Varianzanalyse und nachfolgendem SCHEFFÉ-Test (1953) auf ihre Signifikanz geprüft.

Varianzanalyse

Die Varianzanalyse wurde als partiell-hierarchisches Modell mit drei Faktoren (Zeit, Tiere, Serie) mittels eines Rechners des Institutes für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Gießen, der uns dankenswerterweise zur Verfügung gestellt wurde, ausgeführt.

SCHEFFÉ-Test

Mit Hilfe dieser statistischen Methode werden sogenannte multiple Vergleiche von Mittelwerten durchgeführt. Damit kann man prüfen, welche von mehreren Mittelwerten sich signifikant unterscheiden.

Liegen k der Größe nach geordnete Mittelwerte (Zeilen der Spaltenmittelwerte) vor, dann lassen sich $k-1$ mehrfache Vergleiche aufstellen, z. B. für $k = 4$ die $k-1=3$ sogenannten multiplen Vergleiche:

$\bar{x}_4 - \bar{x}_1; \bar{x}_4 - \bar{x}_2; \bar{x}_4 - \bar{x}_3$. Wird hierbei eine kritische Differenz überschritten, so muß die Nullhypothese, beide Mittelwerte n_i und n_j entstammen derselben Grundgesamtheit verworfen werden.

Nach SCHEFFÉ (1953) gilt für ungleich große und gleich große Stichprobengruppen:

$$D_I = \sqrt{s_{in}^2 (1/n_i + 1/n_j) \cdot (k-1) \cdot F_{(k-1; \sqrt{s_{in}^2}; \alpha)}$$

Darin bedeuten:

s_{in}^2 = Mittleres Quadrat des Versuchsfehlers

$n_i; n_j$ = Stichprobenumfänge der verglichenen Mittelwerte

$\sqrt{s_{in}^2}$ = Anzahl der Freiheitsgrade für s_{in}^2

(zitiert nach: SACHS, L. : Statistische Auswertungsmethoden, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York, 1972)

Die Mittelwertsdifferenz (MWD) wird mit D verglichen:

$MWD \geq D$: Signifikanz

$MWD < D$: Keine Signifikanz

Ein Wert von $\alpha \leq 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

10. Versuchsanordnung

Gruppe A:

Galaktosamin/isotone Kochsalzlösung (GAL/——)

Zehn Kaninchen dieser Gruppe erhielten intravenös Galaktosamin in einer Dosierung von 1 gr/kg Körpergewicht und isotone, sterile und pyrogenfreie Kochsalzlösung (6 ml/Std). Galaktosamin wurde mit Hilfe der Infusionspumpe innerhalb von 30 min. infundiert, die Kochsalzlösung ebenfalls mit der Infusionspumpe bis zum Tod der Tiere.

Gruppe B:

Galaktosamin/Epsilon-Aminocaprönsäure (GAL/EACA)

Vierzehn Kaninchen erhielten Galaktosamin (1 gr/kg) intravenös und das Antifibrinolyticum Epsilon-Aminocaprönsäure in einer Dosierung von 0,5 gr/kg Körpergewicht und Stunde. Das Infusionsvolumen wurde auch hier so eingestellt, daß die Tiere 6 ml Flüssigkeit pro Stunde bekamen. Galaktosamin wurde ebenfalls innerhalb von 30 min., EACA bis zum Tod der Tiere infundiert. Beide Infusionen wurden zur gleichen Zeit gestartet.

Gruppe C:

Isotone Kochsalzlösung/Epsilon-Aminocaprönsäure (——/EACA)

Zehn Kaninchen erhielten isotone, sterile und pyrogenfreie Kochsalzlösung und Epsilon-Aminocaprönsäure (0,5 gr/kg und Std.) in einem Volumen von 6 ml/Std. Diese Gruppe diente als Kontrolle.

Gruppe D:

Galaktosamin/Heparin (GAL/HEP)

Zehn Tiere dieser Gruppe erhielten intravenös Galaktosamin. Zusätzlich wurde eine Heparininfusion durchgeführt (Dosierung: 750 USP-Einheiten Heparin/kg Körpergewicht und Std.) Auch hier erhielten die Tiere 6 ml Flüssigkeit/Std. Vor Beginn der Galaktosamininfusion wurden 1500 UPS-Einheiten Heparin/kg injiziert. Heparin wurde bis zum Tod der Tiere infundiert.

Gruppe E:

Galaktosamin/Epsilon-Aminocaprönsäure/Heparin (GAL/EACA/HEP)

Elf Kaninchen wurde gleichfalls intravenös Galaktosamin verabreicht. Anschließend wurde eine Infusion mit EACA und Heparin in den oben genannten Dosierungen durchgeführt, wobei auch in dieser Gruppe 6 ml Flüssigkeit pro Stunde infundiert wurden. Vor Versuchsbeginn erhielten die Tiere ebenfalls 1500 USP-Einheiten Heparin/kg als einmalige Injektion.

C Ergebnisse

I. Veränderungen der Leberfunktion, des Gerinnungssystems und der Morphologie bei Kaninchen nach Galaktosamininfusion

Zehn Kaninchen erhielten intravenös Galaktosamin in einer Dosierung von 1 gr/kg Körpergewicht und 6 ml physiol. Kochsalzlösung pro Stunde. Galaktosamin wurde innerhalb von 30 min., Kochsalzlösung bis zum Tod der Tiere infundiert.

1. Veränderungen der Leberfunktion

Zum Nachweis der experimentellen Hepatitis bei den Versuchstieren nach Applikation von Galaktosamin wurden die Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und der Gesamtbilirubingehalt im Serum der Tiere herangezogen.

Bereits 6 Stunden nach Infusion von Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung kam es zu einer deutlichen Zunahme der GPT-Aktivität im Serum der Kaninchen gegenüber einer Kontrollgruppe, die Epsilon-Aminocaprönsäure erhielt (Abb. 2). Diese Aktivitätszunahme war jedoch nicht signifikant. Zwölf Stunden nach Applikation des Galaktosamins hatte die GPT-Aktivität noch weiter zugenommen, so daß sich die beiden Gruppen GAL/— und —/EACA signifikant unterschieden ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 2, 11). Wie die Abbildung 2 zeigt, war die mittlere GPT-Aktivität der Kontrollgruppe zu allen untersuchten Zeiten ungefähr gleich und entsprach dem von uns ermittelten Normalwert bei Kaninchen von ca. 15 mU/ml.

Der Gesamtbilirubingehalt im Serum der Kaninchen nahm ebenfalls nach Galaktosamininfusion zu (Abb. 3), was schon an einer Gelbfärbung des Serums zu sehen war. Die Zunahme gegenüber der Kontrollgruppe (—/EACA) war 12 Stunden nach der Galaktosamin-Applikation deutlich signifikant ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 3, 11). Der mittlere Bilirubingehalt im Serum der Kontrolltiere (—/EACA)

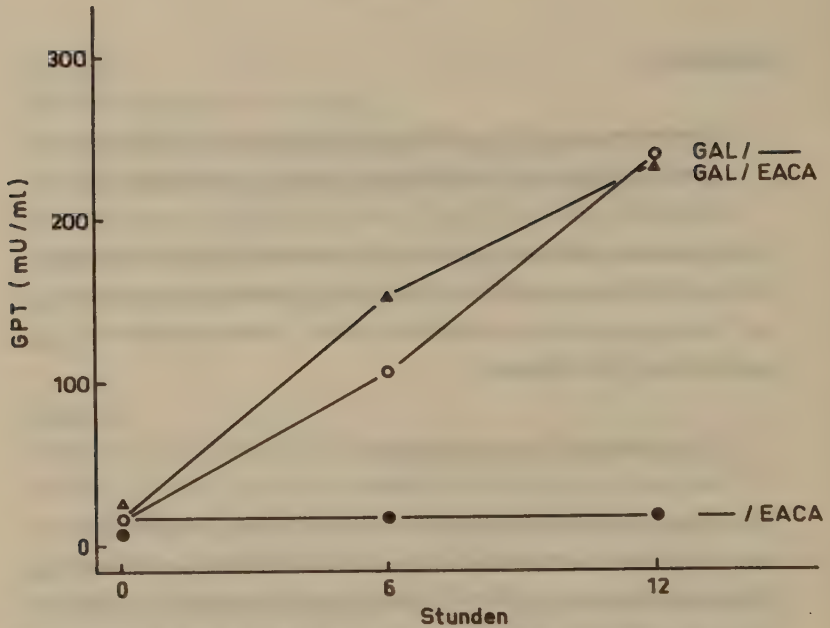


Abb. 2: Verhalten der mittleren Aktivitäten der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung (○—○), Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) (△—△), sowie von physiol. Kochsalzlösung und EACA (●—●) bei Kaninchen. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 2: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der GPT-Werte mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppe (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	299064.4106	4	74766.1026	4.69	$\leq 0,01$
B (C)	732004.4749	46	15913.1407		
A	657773.2385	2	328886.6192	42.50	$\leq 0,001$
A C	224207.1417	4	56051.7854	7.24	$\leq 0,001$
Rest	711809.2864	92	7737.0574		

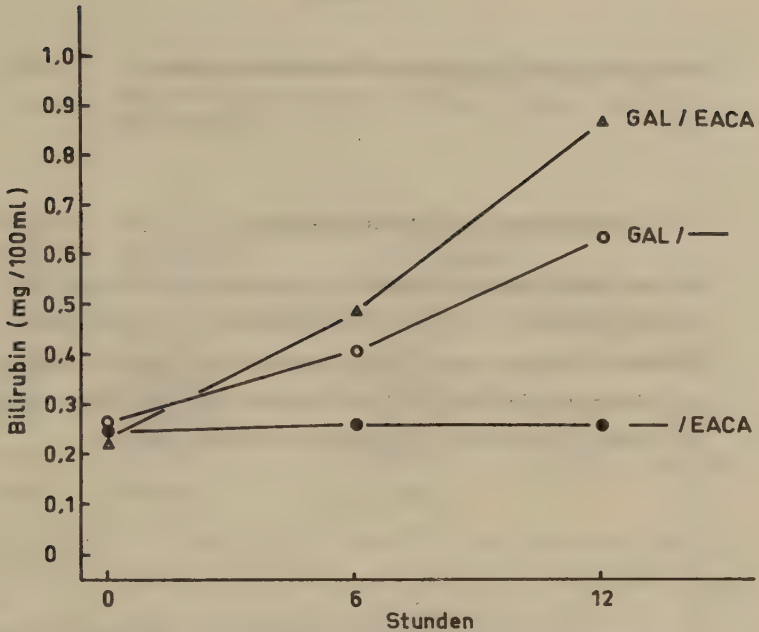


Abb. 3: Anstieg des mittleren Gesamtbilirubingehaltes im Serum von Kaninchen nach Applikation von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 3: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Bilirubin-Werte mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppe (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	1.6922	4	.4230	4.32	$<0,01$
B (C)	4.4961	46	.0977		
A	4.8292	2	2.4146	76.45	$<0,001$
A C	1.4168	4	.3542	11.21	$<0,001$
Rest	2.9054	92	.0315		

zeigte keine Veränderungen und blieb konstant niedrig.

2. Veränderungen des Gerinnungssystems

Die Bestimmung des Hämatokritwertes wurde bei unseren Untersuchungen ausgeführt, um eventuell bei signifikanten Unterschieden im Hämatokritverhalten die Gerinnungsparameter korrigieren zu können. Die Bestimmung des Hämatokritwertes ergab bei allen Tieren infolge der Blutabnahmen und der Infusionen eine Abnahme (Abb. 4).

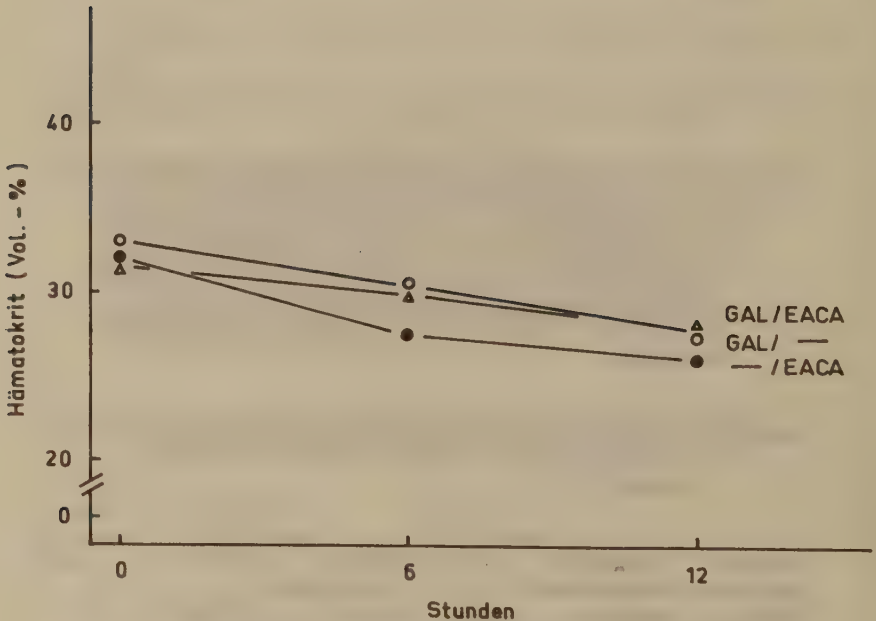


Abb. 4: Verhalten der mittleren Hämatokrit-Werte bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprinsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich nicht signifikant von Kurve —/EACA und untereinander ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 4: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Hämatokrit-Werte mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Varia- bilität	Summe der Abweichungs- quadrate	df	Mittleres Abweichungs- quadrat	F-Wert	α
C	76.2292	4	19.0573	1.05	$>0,05$
B (C)	828.2151	46	18.0046		
A	876.8758	2	438.4379	216.99	$<0,001$
A C	61.9060	4	15.4765	7.65	$<0,001$
Rest	185.8848	92	2.0204		

Da sich ein signifikanter Unterschied in der Hämatokritabnahme gegenüber der Kontrollgruppe nicht finden ließ (statist. Einzelheiten siehe Tab. 4, 11, 12, 13, 14, 15) wurde die Blutverdünnung, die im Verlauf der Versuche eintrat, bei der Angabe der hämatologischen Daten nicht berücksichtigt.

Zur Beurteilung des Gerinnungspotentials wurden die Thrombocytenzahlen, der Fibrinogengehalt, die Aktivität des Prothrombins und des Faktors V, die Partielle Thromboplastinzeit (PTT) und das Thrombelastogramm (TEG) herangezogen.

Nach der Infusion von Galaktosamin zeigte sich ein Abfall der Thrombocytenzahlen im Verlauf der Versuche (Abb. 5). Die statistische Untersuchung ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den mit Galaktosamin behandelten Tieren und den Kontrolltieren, die physiologische Kochsalzlösung und Epsilon-Aminocaprönsäure erhalten hatten ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 5, 11).

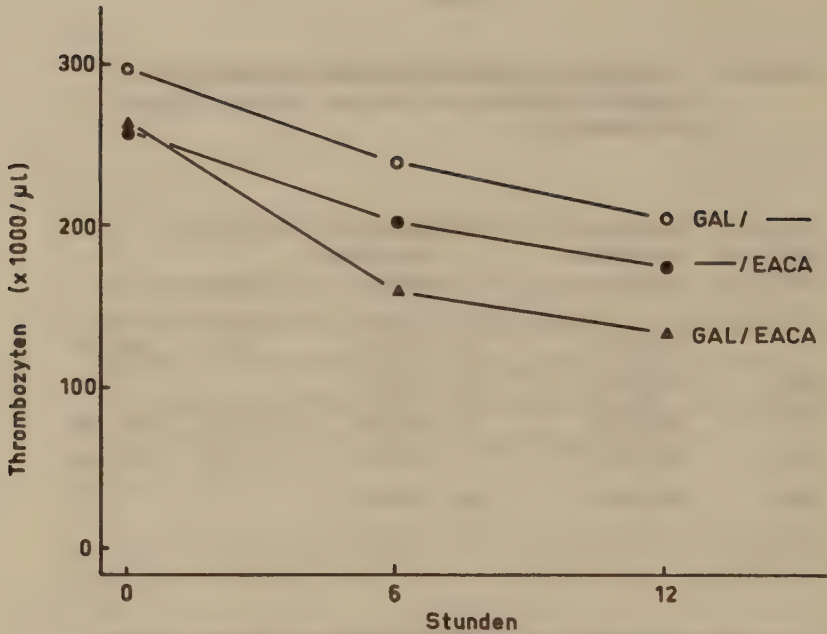


Abb. 5: Abfall der Thrombocytenzahlen bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 5: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Thrombocytenzahlen mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	77002.0145	4	19250.5036	1.20	$> 0,05$
B (C)	732962.1029	46	15933.9587		
A	227040.0391	2	113520.0195	53.53	$< 0,001$
A C	21811.8457	4	5452.9614	2.57	$< 0,05$
Rest	195078.1152	92	2120.4142		

Der mittlere Fibrinogenspiegel sank innerhalb von 12 Stunden nach der Galaktosamininfusion (Abb. 6). Die Unterschiede im Verhalten des Fibrinogenspiegels zwischen der Gruppe GAL/— und der Kontrollgruppe —/EACA waren mit $\alpha < 0,001$ signifikant (statist. Einzelheiten siehe Tab. 6, 11).

Als Ausdruck einer Störung der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren sank die mittlere Prothrombinaktivität im Plasma der mit Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung behandelten Kaninchen (Abb. 7)

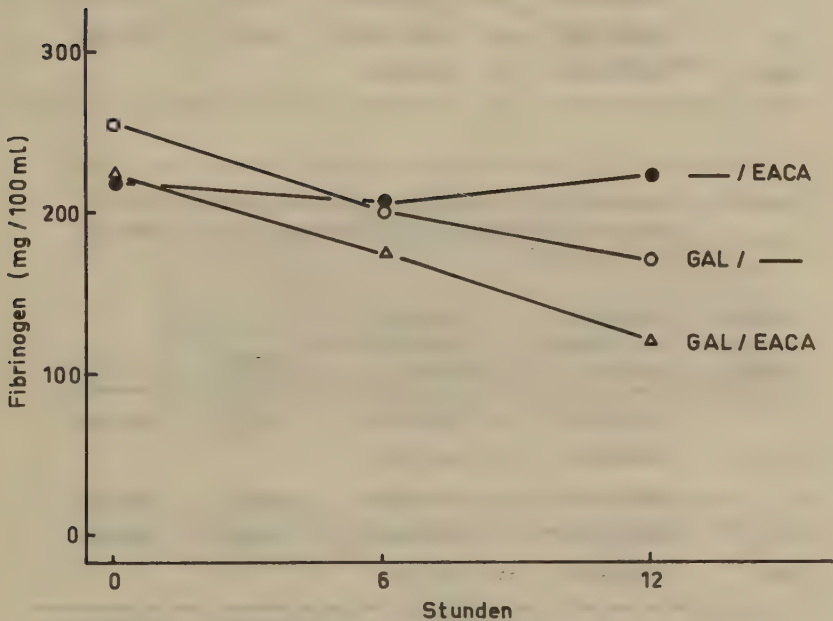


Abb. 6: Verhalten des Fibrinogenspiegels im Plasma von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprinsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Zwischen Kurve GAL/— und Kurve GAL/EACA ist kein signifikanter Unterschied. Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 6: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Fibrinogen-Werte mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	49243.9127	4	12310.9781	1.23	$>0,05$
B (C)	457656.5625	46	9949.0557		
A	156500.0400	2	78250.0200	175.70	$<0,001$
A C	45628.9712	4	11407.2428	25.61	$<0,001$
Rest	40971.5554	92	445.3429		

Tabelle 7: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Prothrombin-Aktivitäten mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	54706.8882	2	27353.4441	120.67	$<0,001$
B (C)	6120.1939	27	226.6738		
A	36335.4055	2	18167.7027	178.85	$<0,001$
A C	19080.2697	4	4770.0674	46.96	$<0,001$
Rest	5485.0780	54	101.5755		

von im Mittel 93 % Aktivität vor Versuchsbeginn auf 24 % Aktivität 12 Stunden nach Beginn der Galaktosamininfusion ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 7, 11).

Die mittlere Aktivität des Faktors V nahm, wie Abbildung 8 zeigt, ebenfalls nach Applikation von Galaktosamin innerhalb von 12 Stunden deutlich ab ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 8, 11).

Die Kontrollgruppe (—/EACA) zeigte eine gleichbleibend hohe Aktivität an Prothrombin und Faktor V.

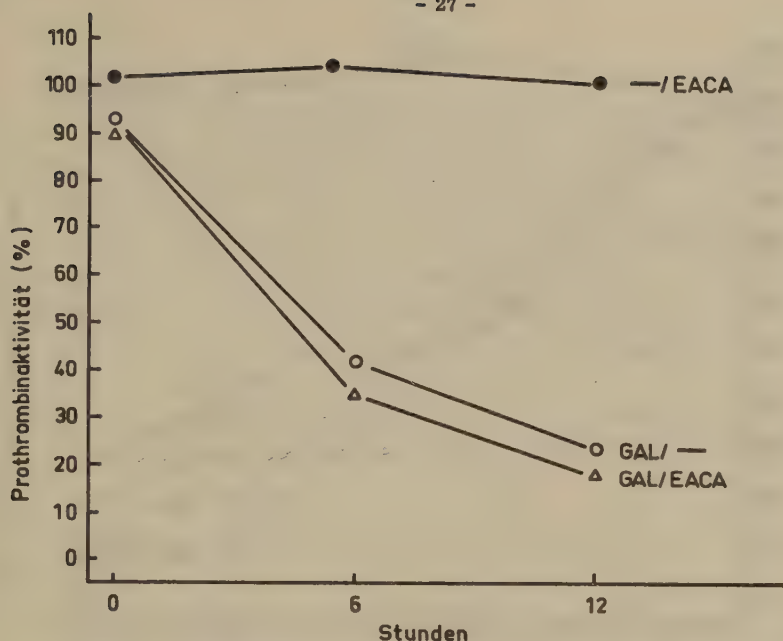


Abb. 7: Veränderungen der mittleren Prothrombin-Aktivitäten im Plasma von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 8: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Faktor-V-Aktivitäten mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	63444.3093	2	31722.1546	30.58	$< 0,001$
B (C)	28007.3640	27	1037.3097		
A	13741.0666	1	13741.0666	33.22	$< 0,001$
A C	3901.5693	2	1950.7846	4.71	$< 0,001$
Rest	11167.2540	27	413.6020		

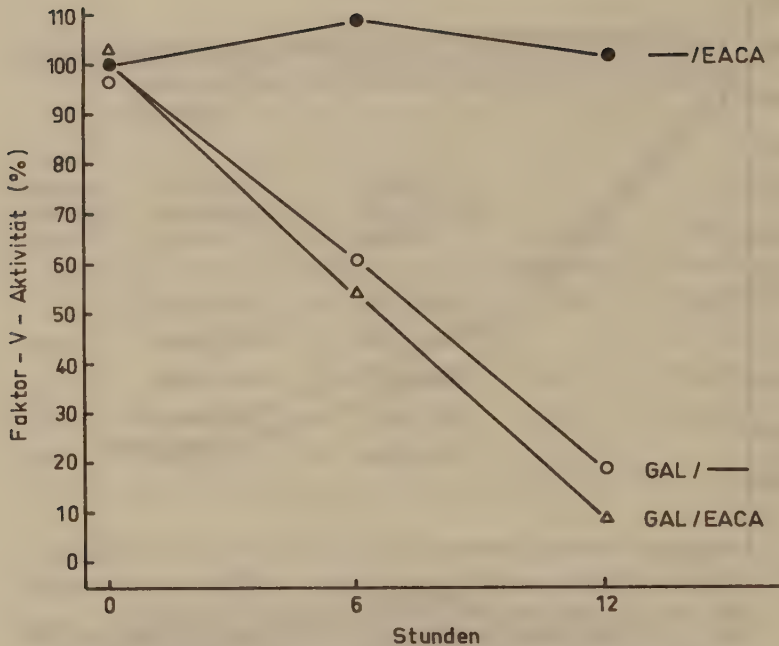


Abb. 8: Abfall der mittleren Faktor-V-Aktivitäten im Plasma von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Die beschriebenen Veränderungen des Gerinnungssystems drückten sich auch in pathologisch veränderten Gerinnungstests aus, die von mehreren Gerinnungsfaktoren beeinflusst werden.

Wurde den Tieren Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung verabreicht, so zeigte sich eine deutliche Verlängerung der Partiiellen Thromboplastinzeit (Abb. 9) im Gegensatz zu den Kontrolltieren, denen kein Galaktosamin infundiert worden war ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 9, 11).

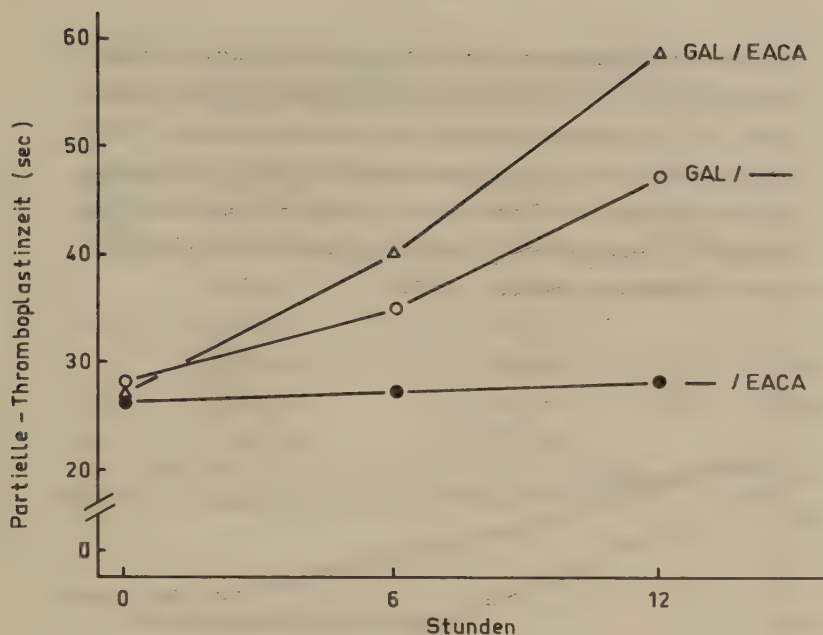


Abb. 9: Verlängerung der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT) nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA bei Kaninchen. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterscheiden sich von Kurve —/EACA signifikant ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 9: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Partiellen Thromboplastinzeit mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	3410.3535	2	1705.1767	10.40	$< 0,001$
B (C)	4422.8176	27	163.8080		
A	4827.6802	2	2413.8401	30.05	$< 0,001$
A C	2314.5977	4	578.6494	7.20	$< 0,001$
Rest	4336.9553	54	80.3139		

Die Thrombelastographie erbrachte ebenfalls den Nachweis einer gestörten Hämostase nach Applikation der Hepatitisauslösenden Substanz (Abb. 10): Die maximale Amplitude im Thrombelastogramm (TEG) zeigte bereits 6 Stunden nach Versuchsbeginn eine deutliche Abnahme, die sich nach weiteren 6 Stunden noch fortsetzte. Die Verschmälerung des TEG war gegenüber der Kontrollgruppe signifikant ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 10, 11).

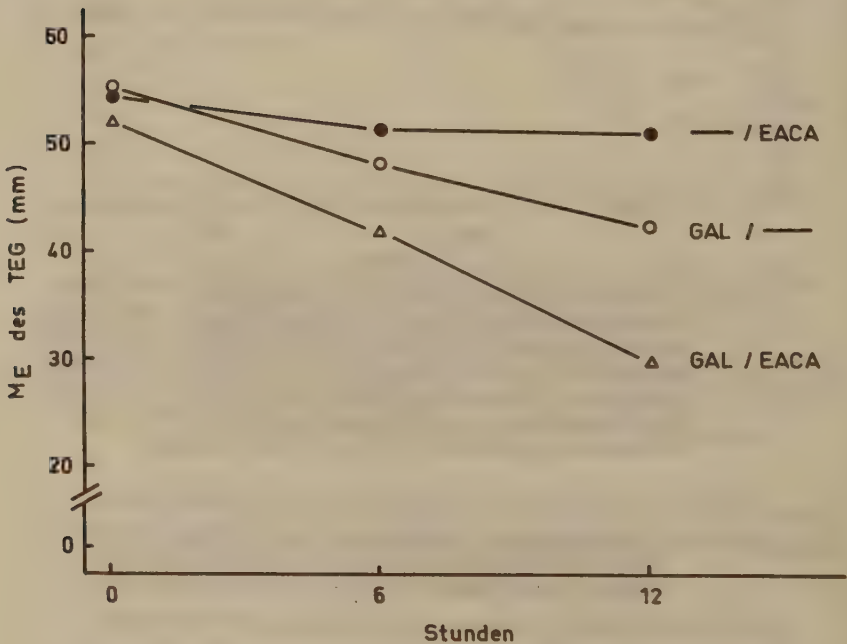


Abb. 10: Veränderungen der Maximalen Amplitude (M_E) im Thrombelastogramm (TEG) bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, von Galaktosamin und Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Symbole wie in Abb. 2. Die Kurven GAL/— und GAL/EACA unterschieden sich signifikant von Kurve —/EACA ($\alpha < 0,001$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Tabelle 10: Varianzanalyse (Partiell-hierarchisches Modell) der Maximalen Amplituden im TEG mit drei Faktoren: Zeit (A), Tiere (B) und Gruppen (C)

Ursprung der Variabilität	Summe der Abweichungsquadrate	df	Mittleres Abweichungsquadrat	F-Wert	α
C	1874.9555	2	937.4777	14.81	$<0,001$
B (C)	1708.8666	27	63.2913		
A	2499.6222	2	1249.8111	43.80	$<0,001$
A C	919.1777	4	229.7944	8.05	$<0,001$
Rest	1540.5333	54	28.5283		

3. Morphologische Veränderungen

Von den Kaninchen, die Galaktosamin und physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten, lebten 24 Stunden nach Versuchsbeginn nur noch 3 Tiere. Die anderen Tiere dieser Gruppe starben 16 bis 23 Stunden nach Versuchsbeginn. Die Sektion wurde entweder sofort nach dem Spontanod oder, sofern die Tiere 24 Stunden nach Versuchsbeginn noch am Leben waren, nach der Tötung durch eine Überdosis Pentobarbital durchgeführt. Sie zeigte eine hellgelbe Farbe der Leber bei den mit Galaktosamin behandelten Tieren. Die Leberfarbe der Kontrolltiere war dunkelrot. Die Lungen waren oft schaumgefüllt, was die zu beobachtende schnappende Atmung der Tiere kurz vor ihrem Tod erklären konnte. Außerdem wiesen einige Tiere punktförmige Blutungen der Lungen auf, wie sie für eine Thrombocytopenie kennzeichnend sind. Einige Tiere hatten auch ausge dehnte, flächenhafte Lungenblutungen.

Zum histologischen Nachweis von fibrinreichen Mikrogerinnseln wurde die HE.-Färbung, die Dimethylaminobenzaldehydnitrit-Reaktion und die Immunfluoreszenz-Technik durchgeführt.

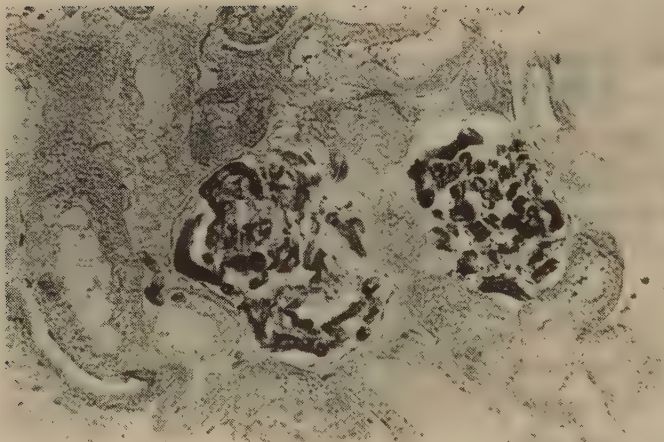


Abb. 11: Fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren eines Kaninchens, dem Galaktosamin infundiert wurde.
Histochemische Färbung

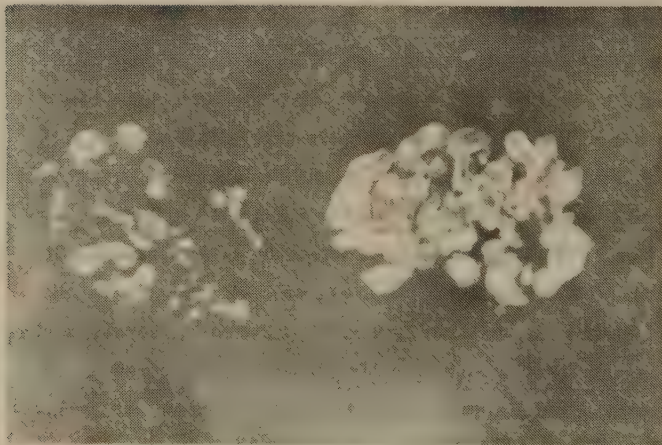


Abb. 12: Ablagerungen mit dem antigenen Charakter von Fibrinogen oder seinen Derivaten in den Glomerulumschlingen eines Kaninchens nach der Infusion von Galaktosamin.
Immunofluoreszenztechnik

Von den 10 Kaninchen, denen Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung infundiert worden waren (Tab. 16, Gruppe A) wiesen 3 Tiere fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf (Abb. 11). Ein Tier dieser Gruppe zeigte schon makroskopisch das Bild einer Nierenrindennektrose wie sie für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen typisch ist. Die Immunfluoreszenz-Technik erbrachte den Beweis, daß es sich bei dem in den Glomerulumkapillaren gefundenen Material um eine Substanz mit dem antigenen Charakter von Fibrinogen oder seinen Derivaten handelte (Abb. 12).

Fibrin wurde außerdem noch in Leber, Lunge und Milz gefunden. Die Organe der Kontrolltiere, denen physiol. Kochsalzlösung und Epsilon-Aminocapronsäure infundiert wurde, waren histologisch unauffällig.

4. Diskussion

Die Infusion von D-Galaktosamin führte bei Kaninchen zu einem akuten Leberzellschaden, der sich in einem signifikanten Anstieg der GPT-Aktivität und des Gesamtbilirubingehaltes ausdrückte. Die gerinnungsanalytischen Untersuchungen zeigten eine gestörte Hämostase bei der Galaktosaminhepatitis: Es kam zu einem signifikanten Abfall des Fibrinogengehaltes, der Prothrombin- und Faktor-V-Aktivität, zu einer Verschmälerung der maximalen Amplitude im TEG und einer Verlängerung der Partiellen Thromboplastinzeit.

Ähnliche gerinnungsanalytische Befunde wie die geschilderten konnten von anderen Autoren bei der Galaktosaminhepatitis der Ratte erhoben werden (GRÜN et al. 1972). Diese Ergebnisse lassen aber noch nicht den Schluß zu, daß die Veränderungen im Gerinnungssystem wenigstens teilweise durch eine Verbrauchskoagulopathie bedingt sein könnten, da eine massive Synthesestörung der plasmatischen Gerinnungsfaktoren in der durch Galaktosamin geschädigten Leber zu ähnlichen Veränderungen führen kann (REUTTER, KEPPLER, DECKER 1969). Um je-

doch zwischen Bildungsstörung und Umsatzstörung der Gerinnungsfaktoren im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie unterscheiden zu können, scheint der Nachweis von fibrinreichen Mikrogerinnseln in anderen Organen als der Leber zum Beweis einer abgelaufenen Verbrauchskoagulopathie bedeutsam.

Die histologische Untersuchung ergab, daß von den 10 mit Galaktosamin infundierten Kaninchen 3 Tiere fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Der geringe Nachweis von Mikrogerinnseln schien möglicherweise durch eine aktive Fibrinolyse bedingt zu sein, die auftretende Gerinnsel dem histologischen Nachweis entzieht. Es ist bekannt, daß nicht in jedem Falle einer abgelaufenen Verbrauchskoagulopathie Fibrin nachgewiesen werden kann (McKAY und MÜLLER-BERGHHAUS 1967).

Deshalb wurde in einer weiteren Versuchsserie 14 Tieren zusätzlich zu Galaktosamin das Antifibrinolyticum Epsilon-Aminocaprinsäure verabreicht.

II. Wirkung von Epsilon-Aminocaprinsäure auf die durch Galaktosamin ausgelösten Veränderungen der Leberfunktion, des Gerinnungssystems und der Morphologie bei Kaninchen

Vierzehn Kaninchen erhielten Galaktosamin in einer Dosierung von 1 gr/kg Körpergewicht und zusätzlich Epsilon-Aminocaprinsäure (EACA) in einer Dosierung von 0,5 gr/kg und Std. Galaktosamin wurde innerhalb von 30 min., EACA bis zum Tod der Tiere infundiert.

1. Veränderungen der Leberfunktion

Die Veränderungen der Leberfunktion nach der Infusion von Galaktosamin und EACA waren ähnlich stark ausgeprägt wie bei den Tieren, die Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung erhalten hatten:

Bereits 6 Stunden nach der Infusion von Galaktosamin und EACA stieg die GPT-Aktivität signifikant an (Abb. 2). Zwölf Stunden nach Beginn der Galaktosamininfusion hatte die GPT-Aktivität noch weiter zugenommen. In der Abbildung fällt ein etwas höherer Anstieg bei der Gruppe mit Galaktosamin- und EACA-Infusion (GAL/EACA) gegenüber der Gruppe, die Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung erhalten hatte auf. Die statistische Untersuchung ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden mit Galaktosamin behandelten Gruppen ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 13).

Der Gesamtbilirubingehalt im Serum der Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin und EACA stieg innerhalb von 12 Stunden nach Versuchsbeginn signifikant an ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 3, 12). Der mittlere Gesamtbilirubingehalt in dieser Gruppe lag zwar auch höher als in der Gruppe, die mit Galaktosamin alleine behandelt worden war, signifikante Unterschiede ließen sich aber auch hier nicht feststellen (Abb. 3).

Tabelle 11: Scheffé-Test: Vergleich der Mittelwerte von Gruppe A (GAL/—) mit Mittelwerten der Gruppe C (—/EACA)

	Faktor II	Faktor V	Fibrinogen	Thrombocyten
$D_{0,05}$	11.46	23.54	30.02	65.51
$D_{0,01}$	14.51	30.14	36.06	78.68
$D_{0,001}$	18.31	38.63	43.49	94.90
MWD _O	8.65	0.00	36.28	38.00
MWD ₆	62.55	48.25	5.73	36.10
MWD ₁₂	78.17	83.59	51.66	30.50

	PTT	Maximale Amplitude	Hämato- krit	GPT	Bilirubin
D _{0,05}	10.19	6.07	2.02	125.14	0.2525
D _{0,01}	12.90	7.69	2.42	150.31	0.3032
D _{0,001}	16.28	9.70	2.93	181.29	0.3658
MWD ₀	1.31	0.9	0.9	0.2	0.0184
MWD ₆	7.64	3.1	2.9	90.4	0.1465
MWD ₁₂	19.2	8.6	1.6	220.35	0.375

MWD₀ = Mittelwertsdifferenz vor Versuchsbeginn

MWD₆ = Mittelwertsdifferenz 6 Stunden nach Versuchsbeginn

MWD₁₂ = Mittelwertsdifferenz 12 Stunden nach Versuchsbeginn

Die Indices von D beziehen sich auf das Signifikanzniveau

MWD $\geq$ D: Signifikanz

MWD $<$ D: Keine Signifikanz

Tabelle 12: Scheffé-Test; Vergleich der Mittelwerte der Gruppe B
(GAL/EACA) mit Mittelwerten der Gruppe C (—/EACA)

	Faktor II	Faktor V	Fibrinogen	Thrombocyten
D _{0,05}	11.46	23.54	30.02	65.51
D _{0,01}	14.51	30.14	36.06	78.88
D _{0,001}	18.31	38.63	43.49	94.90

	Faktor II	Faktor V	Fibrinogen	Thrombocyten
MWD ₀	10.15	0.00	3.67	5.8
MWD ₆	69.7	55.2	29.91	42.9
MWD ₁₂	83.63	88.16	102.13	39.8

	PTT	Maximale Amplitude	Hämatokrit	GPT	Bilirubin
D _{0,05}	10.19	6.07	2.02	125.14	0.2525
D _{0,01}	12.90	7.69	2.42	150.31	0.3032
D _{0,001}	16.28	9.70	2.93	181.29	0.3658
MWD ₀	0.94	2.2	0.6	0.2	0.0123
MWD ₆	12.86	9.5	2.3	137.7	0.2226
MWD ₁₂	30.94	21.2	1.7	214.35	0.6120

MWD₀ = Mittelwertsdifferenz vor Versuchsbeginn

MWD₆ = Mittelwertsdifferenz 6 Stunden nach Versuchsbeginn

MWD₁₂ = Mittelwertsdifferenz 12 Stunden nach Versuchsbeginn

Die Indices von D beziehen sich auf das Signifikanzniveau

MWD $\geq$ D: Signifikanz

MWD $<$ D: Keine Signifikanz

2. Veränderungen des Gerinnungssystems

Zur Beurteilung des Gerinnungspotentials wurden wie im vorangehenden Abschnitt die Thrombocytenzahlen, der Fibrinogengehalt, die Aktivität des Prothrombins und des Faktors V, die Partielle Thromboplastinzeit (PTT) und die Thrombelastographie (TEG) herangezogen.

Nach Infusion von Galaktosamin und EACA kam es zu einem Thrombocytenabfall (Abb. 5), der jedoch nicht signifikant war ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 5, 12).

Der mittlere Fibrinogenspiegel nahm innerhalb von 12 Stunden nach der Galaktosamininfusion signifikant ($\alpha < 0,001$) gegenüber der Kontrollgruppe ab (Abb. 6). Der mittlere Abfall des Fibrinogenspiegels war unabhängig davon, ob zusätzlich zum Galaktosamin Epsilon-Aminocaprönsäure infundiert worden war, da zwischen den Gruppen GAL/— und GAL/EACA kein signifikanter Unterschied im Verhalten des Fibrinogenspiegels gezeigt werden konnte ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 13). Nach der Infusion von Galaktosamin und EACA fiel die Prothrombinaktivität (Abb. 7) von im Mittel 92 % auf 18 % innerhalb von 12 Stunden nach Versuchsbeginn ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 7, 12). In ähnlicher Weise verhielt sich die Aktivität des Faktors V (Abb. 8), die ebenfalls innerhalb von 12 Stunden signifikant abnahm ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 8, 12). Der mittlere Abfall der Aktivitäten des Prothrombins und des Faktors V war von der zusätzlichen EACA-Infusion unabhängig, da zwischen den beiden mit Galaktosamin behandelten Gruppen kein signifikanter Unterschied gefunden werden konnte ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab.13).

Tabelle 13: Scheffé-Test: Vergleich der Mittelwerte von Gruppe A
(GAL/—) mit Mittelwerten der Gruppe B (GAL/EACA)

	Faktor II	Faktor V	Fibrinogen	Thrombocyten
D _{0,05}	11.46	23.54	30.02	65.51
D _{0,01}	14.51	30.14	36.06	78.68
D _{0,001}	18.31	38.63	43.49	94.90
MWD ₀	1.5	0.00	32.61	32.2
MWD ₆	7.15	6.95	24.18	79.0
MWD ₁₂	5.46	4.57	50.47	70.3

	PTT	Maximale Amplitude	Hämato- krit	GPT	Bilirubin
D _{0,05}	10.19	6.07	2.02	125.14	0.2525
D _{0,01}	12.90	7.69	2.42	150.31	0.3032
D _{0,001}	16.28	9.70	2.93	181.29	0.3658
MWD ₀	0.37	3.1	1.5	0.4	0.0307
MWD ₆	5.22	6.4	0.6	47.3	0.0761
MWD ₁₂	11.74	12.6	0.1	6.0	0.237

MWD₀ = Mittelwertsdifferenz vor Versuchsbeginn

MWD₆ = Mittelwertsdifferenz 6 Stunden nach Versuchsbeginn

MWD₁₂ = Mittelwertsdifferenz 12 Stunden nach Versuchsbeginn

Die Indices von D beziehen sich auf das Signifikanzniveau

MWD $\geq$ D: Signifikanz MWD $<$ D: Keine Signifikanz

Tabelle 14: Scheffé-Test: Vergleich der Mittelwerte von Gruppe A (GAL/—) mit Mittelwerten der Gruppe D (GAL/HEP)

	Thrombo- cyten	Fibrino- gen	Hämato- krit	GPT	Bili- rubin
D _{0,05}	65.51	30.02	2.02	125.14	0.2525
D _{0,01}	78.68	36.06	2.42	150.31	0.3032
D _{0,001}	94.90	43.49	2.93	181.29	0.3658
MWD ₀	30.3	2.24	0.9	1.1	0.1005
MWD ₆	21.2	4.43	1.1	19.2	0.0567
MWD ₁₂	6.0	16.44	2.3	26.8	0.0481

Tabelle 15: Scheffé-Test: Vergleich der Mittelwerte von Gruppe B (GAL/EACA) mit Mittelwerten der Gruppe E (GAL/EACA/HEP)

	Thrombo- cyten	Fibrino- gen	Hämato- krit	GPT	Bili- rubin
D _{0,05}	64.00	29.33	1.98	122.26	0.2466
D _{0,01}	76.87	35.23	2.37	146.85	0.2963
D _{0,001}	92.72	42.49	2.86	177.12	0.3573
MWD ₀	12.38	7.06	0.9	1.11	0.2740
MWD ₆	2.4	3.23	0.6	48.66	0.0485
MWD ₁₂	35.22	3.11	0.7	95.73	0.2236

MWD₀ = Mittelwertsdifferenz vor Versuchsbeginn

MWD₆ = Mittelwertsdifferenz 6 Stunden nach Versuchsbeginn

MWD_{12} = Mittelwertsdifferenz 12 Stunden nach Versuchsbeginn

Die Indices von D beziehen sich auf das Signifikanzniveau

$MWD \geq D$: Signifikanz

$MWD < D$: Keine Signifikanz

Die Partielle Thromboplastinzeit (PTT) zeigte ebenfalls eine deutliche Verlängerung nach Infusion von Galaktosamin und EACA (Abb. 9, $\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 9, 12). Die Verlängerung der PTT bei gleichzeitiger Infusion von EACA war signifikant ausgeprägter als bei alleiniger Gabe von Galaktosamin ($\alpha < 0,05$, siehe Tab. 13).

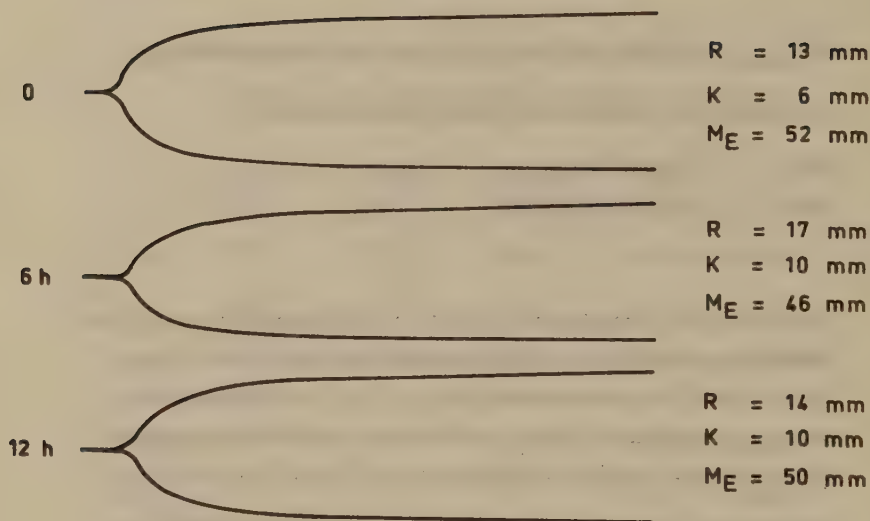
Die Maximale Amplitude im Thrombelastogramm (TEG) hatte im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant abgenommen ($\alpha < 0,001$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 10, 12). Auch hier konnte die zusätzliche Verabreichung von EACA eine noch stärkere Abnahme der Maximalen Amplitude im TEG im Vergleich zu den allein mit Galaktosamin behandelten Tieren hervorrufen (Abb. 10, $\alpha < 0,001$).

Zur Veranschaulichung des pathologisch veränderten Thrombelastogramms bei experimenteller Galaktosaminhepatitis sind einige nach den Originalen gezeichnete Thrombelastogramme abgebildet (Abbildung 13, 14). Aus jeder der drei Gruppen wurde ein Tier gewählt. Sehr deutlich ist in diesen Diagrammen die Reduzierung der Maximalen Amplitude sowie eine Verlängerung der Reaktionszeit r nach Gabe von Galaktosamin zu erkennen.

3. Morphologische Veränderungen

Von den 14 Kaninchen, denen gleichzeitig Galaktosamin und EACA infundiert worden war, überlebte keines 24 Stunden. Die Tiere starben im Zeitraum von 13 bis 21 Stunden nach Beginn der Galaktosamininfusion.

CR 13 (-/ EACA)



CR 3 (GAL / -)

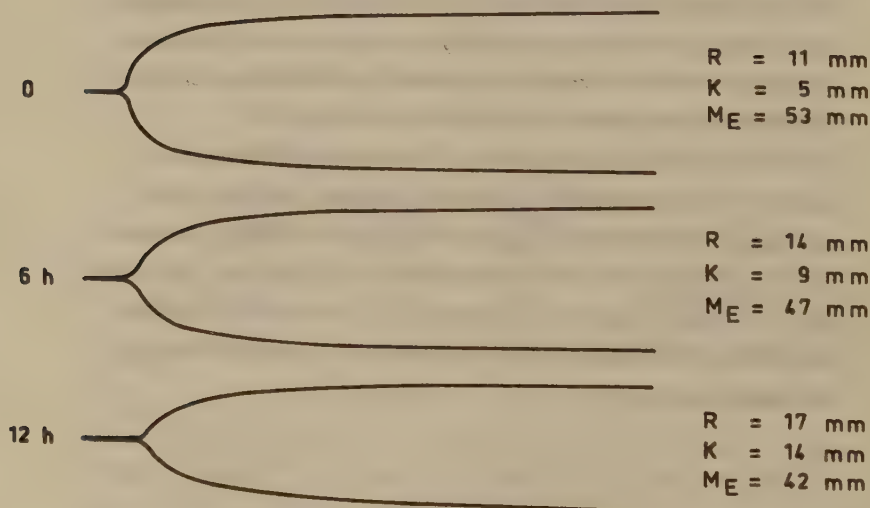


Abb. 13: Darstellung von Thrombelastogrammen (TEG) bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung und von physiol. Kochsalzlösung und EACA. Die TEG's wurden vor Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0), 6 und 12 Stunden danach durchgeführt. (Nach den Originalen gezeichnet). Die Einzelwerte, die in der Abbildung angegeben sind, wurden an den Originalen gemessen.

CR 1 (GAL / EACA)

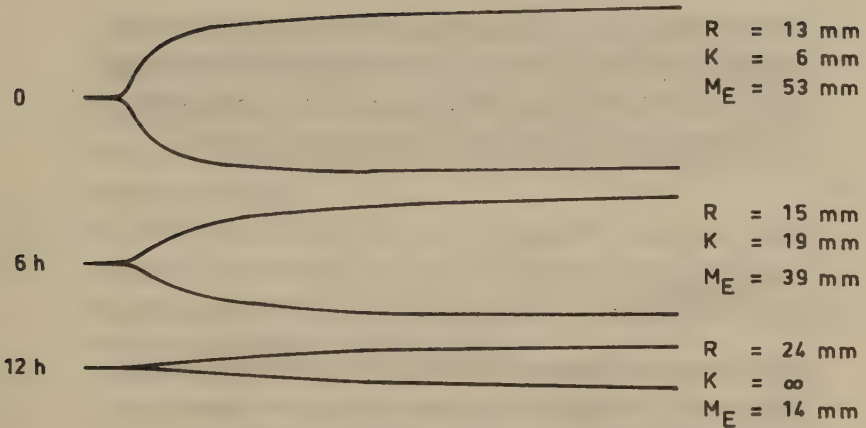


Abb. 14: Darstellung von Thrombelastogrammen (TEG) bei einem Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und Epsilon-Aminocapronsäure (EACA). Die TEG's wurden vor Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0), 6 und 12 Stunden danach durchgeführt. (Nach den Originalen gezeichnet). Die Einzelwerte, die in der Abbildung angegeben sind, wurden an den Originalen gemessen.

Tabelle 16: Auftreten von fibrinreichen Mikrogerinnseln in den Glomerulumkapillaren der Niere bei Kaninchen, denen Galaktosamin (GAL), Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und physiol. Kochsalzlösung (NaCl) in verschiedenen Kombinationen infundiert worden war.

Gruppe	Behandlung	Anzahl der Kaninchen	Häufigkeit von glomerulären Mikrogerinnseln
A	GAL, NaCl	10	3/10
B	GAL, EACA	14	8/14
C	NaCl, EACA	10	0/10

Die histologische Untersuchung zeigte, daß von 14 mit Galaktosamin und EACA behandelten Kaninchen 8 Tiere fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Zwei Tiere dieser Gruppe hatten makroskopisch sichtbare Nierenrindennekrosen (Tab. 16).

4. Diskussion

Nach Infusion von Galaktosamin und EACA kam es zu ähnlichen hämatologischen Veränderungen wie bei alleiniger Gabe von Galaktosamin.

Der Anstieg der GPT-Aktivität und des Gesamtbilirubingehaltes zeigte den akuten Leberschaden. Die zusätzliche Applikation von EACA schien den Leberschaden nicht zu beeinflussen, da signifikante Unterschiede in den Laborwerten zwischen beiden mit Galaktosamin behandelten Gruppen nicht auftraten. Die Abnahme der Thrombocytenzahlen, des Fibrinogengehaltes und der Aktivitäten des Prothrombins und des Faktors V war ähnlich stark ausgeprägt wie bei alleiniger Gabe von Galaktosamin. Die Gerinnungstests, die von mehreren Gerinnungsfaktoren beeinflusst werden, zeigten einen Effekt der zusätzlichen Behandlung mit EACA: Sowohl die Partielle Thromboplastinzeit als auch das Thrombelastogramm fielen pathologischer aus, wenn den Tieren zusätzlich EACA verabreicht wurde. Die histologische Untersuchung erbrachte eine Bestätigung der Vermutung, daß durch eine Verbrauchskoagulopathie entstandenes Fibrin bei den Tieren, die mit Galaktosamin alleine behandelt worden waren, wieder abgebaut worden war. Obwohl die gerinnungsanalytischen Befunde bei den mit EACA und Galaktosamin behandelten Tieren und damit das Ausmaß der intravasalen Gerinnung ähnlich stark ausgeprägt waren wie bei den Tieren, denen ausschließlich Galaktosamin verabreicht wurde, konnte Fibrin in einem weit höheren Prozentsatz bei gehemmter Fibrinolyse beobachtet werden.

Eine intravasale Gerinnung kann durch Antikoagulantien unterbrochen

werden (GOOD und THOMAS 1953, SHAPIRO und McKAY 1958, LITTLE 1959, LASCH et al. 1961). Bei Vorliegen einer Verbrauchs-koagulopathie führt die Behandlung zum Beispiel mit Heparin zu einem Anstieg der Thrombocytenzahlen und der Aktivitäten plasmatischer Gerinnungsfaktoren.

Es wurde deshalb in einer weiteren Versuchsserie untersucht, ob die Hemmung der Gerinnung durch eine Heparinbehandlung die beschriebenen gerinnungsanalytischen und histologischen Veränderungen bei der Galaktosaminhepatitis beeinflussen kann.

III. Der Effekt einer Heparinbehandlung auf die durch Galaktosamin ausgelösten Veränderungen der Leberfunktion, des Gerinnungssystems und der Morphologie bei Kaninchen

Bei 10 Kaninchen wurde zusätzlich zur Galaktosamininfusion (1 gr/kg) eine Heparininfusion (750 USP-E/kg · Std.) durchgeführt. Galaktosamin wurde innerhalb von 30 min. , Heparin bis zum Tod der Tiere infundiert. Als Kontrollen dienten Tiere, denen Galaktosamin und isotone Kochsalzlösung verabreicht wurde.

In gleicher Weise wurden 11 Kaninchen, denen Galaktosamin und EACA infundiert worden war, mit Heparin behandelt (Dosierungen wie oben). Galaktosamin wurde ebenfalls innerhalb von 30 min. , EACA und Heparin bis zum Tod der Tiere infundiert. Kaninchen, denen Galaktosamin und EACA verabreicht wurde, dienten als Kontrolle.

1. Veränderungen der Leberfunktion

Wurde den Tieren zusätzlich zu Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung (GAL/HEP) bzw. Galaktosamin und EACA (GAL/EACA/HEP) noch Heparin infundiert, so kam es zu einem deutlichen Anstieg der GPT-Aktivität innerhalb von 12 Stunden nach Beginn der Galaktosamin-

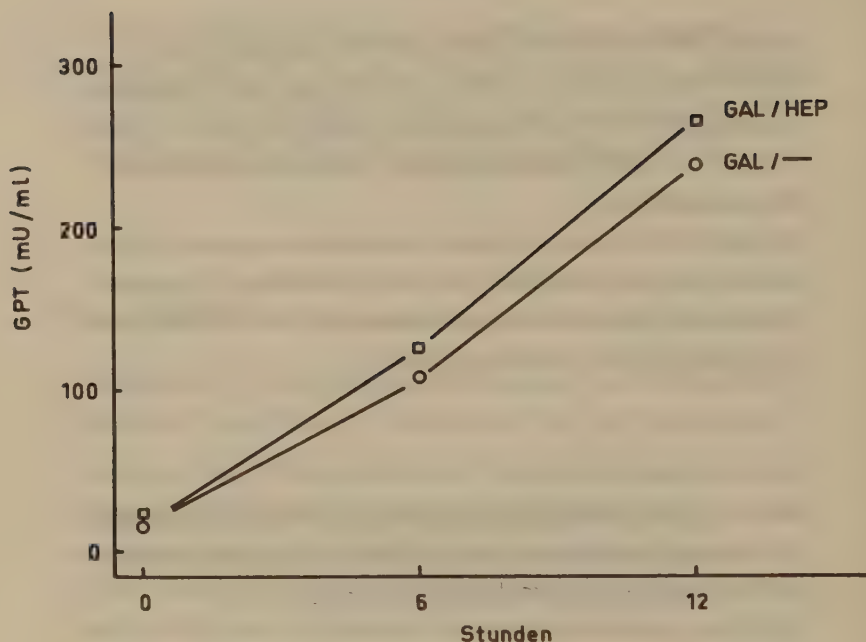


Abb. 15: Verhalten der mittleren Aktivitäten der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) im Serum von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung (○ — ○) und von Galaktosamin und Heparin (HEP) (□ — □). Die Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

infusion (Abb. 15, 16). Der Anstieg der GPT-Aktivität war unabhängig davon, ob den Tieren zusätzlich zum Galaktosamin noch Heparin infundiert worden war, da zwischen den Gruppen mit und ohne Heparinbehandlung kein signifikanter Unterschied gefunden werden konnte ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 14, 15).

Ähnlich verhielt sich der Gesamtbilirubinbehalt im Serum der Versuchstiere. Der Gesamtbilirubinspiegel nahm nach Galaktosamininfusion und zusätzlicher Heparinbehandlung innerhalb von 12 Stunden nach Versuchsbeginn zu (Abb. 17, 18).

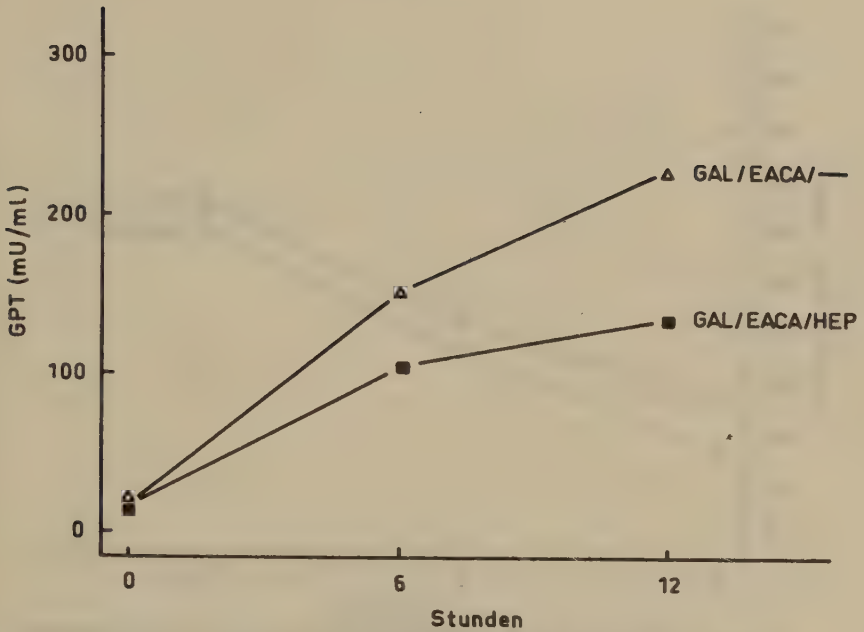


Abb. 16: Verhalten der mittleren Aktivitäten der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) im Serum von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und Epsilon-Aminocaprinsäure (EACA) (Δ — Δ) und von Galaktosamin, EACA und Heparin (HEP) ($\blacksquare$ — $\blacksquare$). Die Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 (GAL/EACA) bzw. 11 (GAL/EACA/HEP) Einzelwerten errechnet.

Ein statistisch sicherer Einfluß der Heparin-Infusion auf die Leberfunktion war nicht nachzuweisen, da zwischen den Tieren mit und ohne Heparin-Behandlung kein signifikanter Unterschied bestand ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 14, 15).

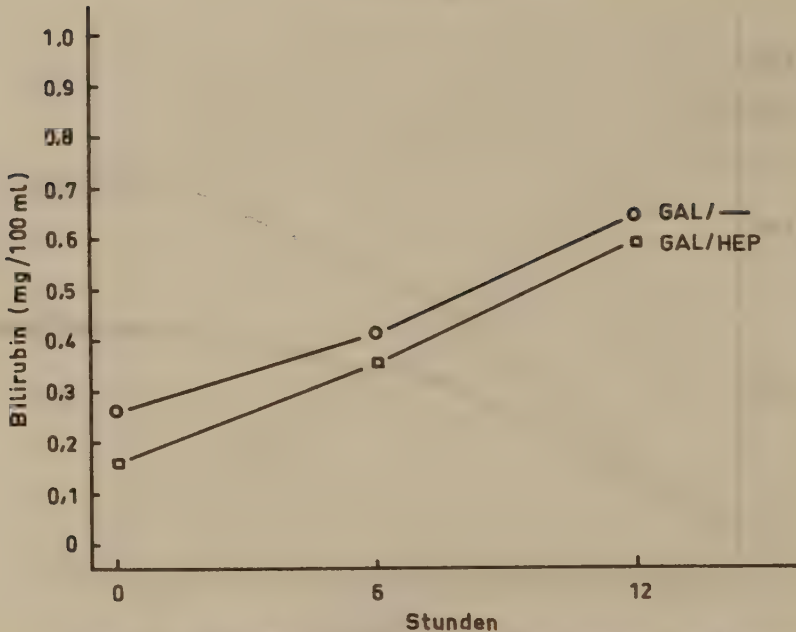


Abb. 17: Anstieg des Gesamtbilirubingehaltes im Serum von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung und von Galaktosamin und Heparin (HEP). Symbole wie in Abb. 15. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kurven ermittelt ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

2. Veränderungen des Gerinnungssystems

In der Heparin-Serie wurden zur Beurteilung des Gerinnungssystems der Fibrinogenspiegel und die Thrombocytenzahlen untersucht.

Die Thrombocytenzahlen fielen bei den Kaninchen, die zu Galaktosamin und physiol. Kochsalzlösung (GAL/HEP) bzw. Galaktosamin und EACA (GAL/EACA/HEP) noch eine Heparin-Infusion erhielten, um etwa den gleichen Betrag wie bei den Tieren ohne Heparin-Behandlung.

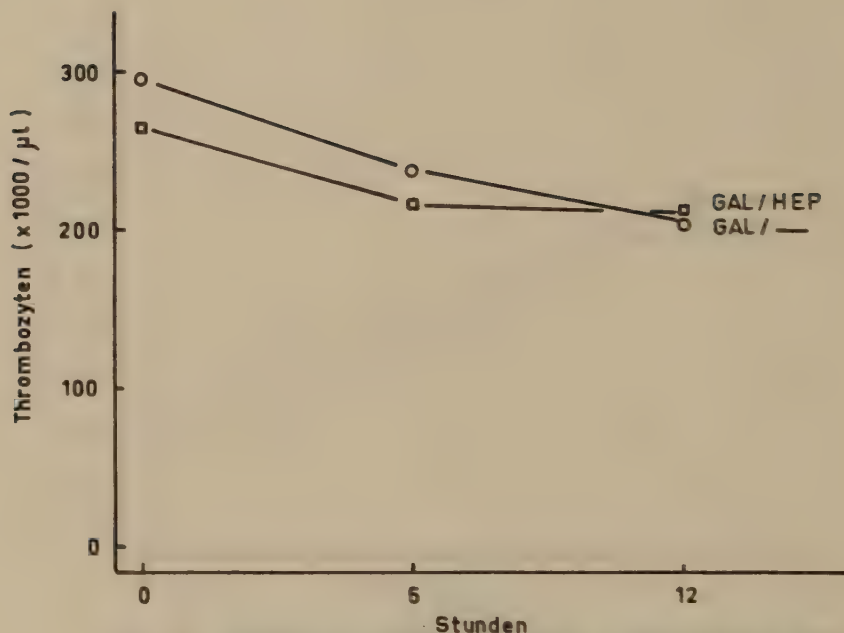


Abb. 19: Abnahme der Thrombocytenzahlen bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und physiol. Kochsalzlösung, und von Galaktosamin und Heparin (HEP). Symbole wie in Abb. 15. Die beiden Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 Einzelwerten errechnet.

Heparin infundiert worden war (Abb. 21, 22).

Es ließ sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den

Tieren mit und ohne Heparin-Behandlung zeigen ($\alpha > 0,05$, statist. Einzelheiten siehe Tab. 14, 15).

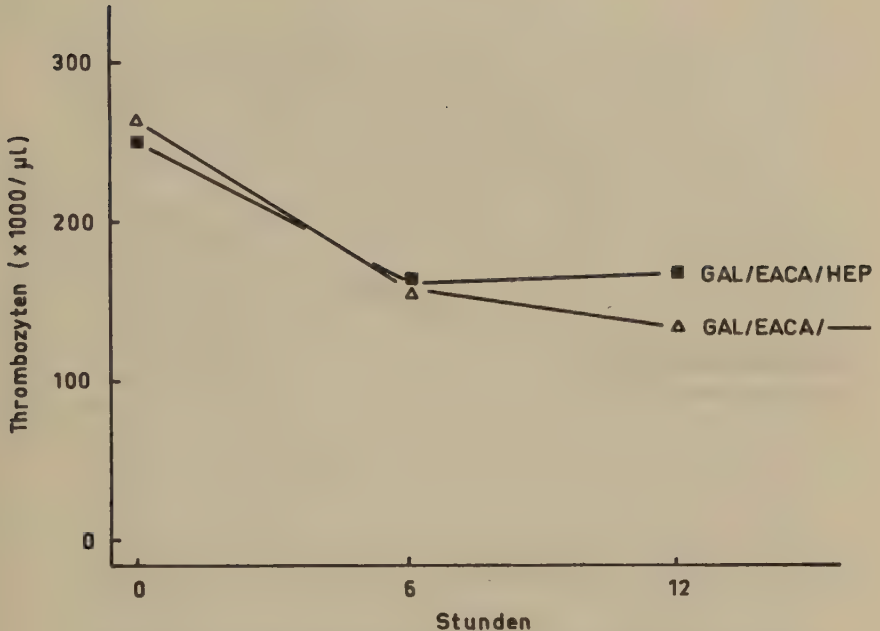


Abb. 20: Abfall der Thrombocytenzahlen bei Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und von Galaktosamin, EACA und Heparin (HEP). Symbole wie in Abb. 16. Die beiden Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 (GAL/EACA) bzw. 11 (GAL/EACA/HEP) Einzelwerten errechnet.

3. Morphologische Veränderungen

Von den 10 Kaninchen, die mit Galaktosamin und Heparin behandelt wurden, lebten 24 Stunden nach Versuchsbeginn noch 2 Tiere, die übrigen Tiere starben im Zeitraum von 14 bis 23 Stunden nach Versuchsbeginn. Von den 11 Kaninchen, die Galaktosamin, EACA und Heparin erhalten hatten, überlebte kein Tier 24 Stunden. Die Tiere starben im Zeitraum von 12,5 bis 23 Stunden nach Versuchsbeginn.

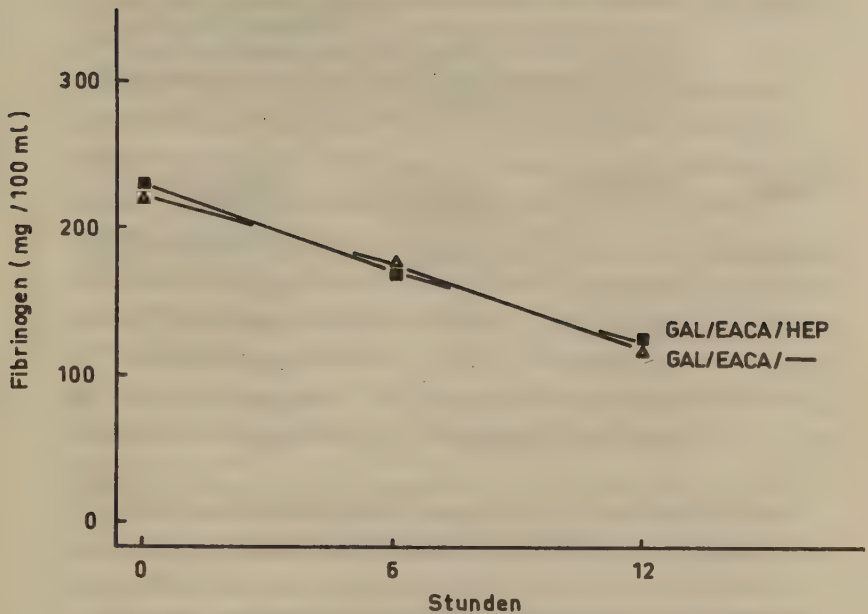


Abb. 22: Verhalten des Fibrinogenspiegels im Plasma von Kaninchen nach Infusion von Galaktosamin (GAL) und Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA) und von Galaktosamin, EACA und Heparin (HEP). Symbole wie in Abb. 16. Die beiden Kurven unterscheiden sich nicht signifikant ($\alpha > 0,05$). Die Mittelwerte wurden aus je 10 (GAL/EACA) bzw. 11 (GAL/EACA/HEP) Einzelwerten errechnet.

Leberschaden ließ sich jedoch nicht nachweisen. Ebenso wenig konnte Heparin die Überlebenszeit der Versuchstiere verlängern. Der mittlere Fibrinogenspiegel und die mittleren Thrombocytenzahlen fielen um etwa den gleichen Betrag ab wie bei den Tieren mit Galaktosaminhepatitis, denen kein Heparin verabreicht worden war. Die hämatologische Untersuchung alleine erbrachte uns deshalb keinen Beweis einer Beeinflussung der intravasalen Gerinnung durch Heparin bei akutem Leberzellschaden.

Tabelle 17: Auftreten von fibrinreichen Mikrogerinnseln in den Glomerulumkapillaren der Niere bei Kaninchen, denen Galaktosamin (GAL), Epsilon-Aminocaprönsäure (EACA), physiol. Kochsalzlösung (NaCl) und Heparin (HEP) in verschiedenen Kombinationen infundiert worden war

Gruppe	Behandlung	Anzahl der Kaninchen	Häufigkeit von glomerulären Mikrogerinnseln
A	GAL, NaCl	10	3/10
B	GAL, EACA	14	8/14
C	NaCl, EACA	10	0/10
D	GAL, HEP	10	0/10
E	GAL, EACA, HEP	11	0/11

Die Gruppen A, B, C sind identisch mit denen in Tabelle 16.

Nach GOOD und THOMAS 1953, SHAPIRO und McKAY 1958, LITTLE 1959, LASCH et al. 1961 führte eine Therapie mit Antikoagulantien bei Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie zu einem Anstieg der Thrombocytenzahlen und plasmatischen Gerinnungsfaktoren. Dieser Effekt blieb bei unseren Experimenten aus. Die histologische Untersuchung zeigte aber, daß Heparin eine Verbrauchskoagulopathie bei der Galaktosaminhepatitis des Kaninchens verhindert haben mußte, denn keines der 21 mit Galaktosamin und Heparin behandelten Tiere wies glomeruläre Mikrogerinnsel auf.

Der Nachweis von glomerulären Mikrogerinnseln und die Beobachtung, daß eine Heparinbehandlung das Auftreten von Fibrin in der Niere verhindert hatte, bewiesen zusammen mit den gerinnungsanalytischen Befunden die Verbrauchskoagulopathie, die im Rahmen der Galaktosaminhepatitis des Kaninchens auftreten kann.

D Zusammenfassende Diskussion

Nach der Infusion von D-Galaktosamin zeigten Kaninchen einen akuten Leberzellschaden, der sich in einer Aktivitätszunahme der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und einem Anstieg des Gesamtbilirubin-gehaltes im Serum ausdrückte. Die gerinnungsanalytischen Veränderungen waren gekennzeichnet durch eine Abnahme des Fibrinogengehaltes, der Prothrombin- und Faktor-V-Aktivität. Als Ausdruck einer umfassenden Störung des Gerinnungspotentials kam es zu einer Verlängerung der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und zu einer Verschmälerung der Maximalen Amplitude im Thrombelastogramm (TEG). Alle Veränderungen traten innerhalb von 12 Stunden nach der Galaktosamininfusion auf.

Die vorliegenden gerinnungsanalytischen Befunde bei akutem Leberzellschaden wurden in ähnlicher Weise auch von anderen Autoren beschrieben. GRÜN et al. (1972) applizierten Ratten Galaktosamin intraperitoneal. Dabei fand sich eine Abnahme des Fibrinogengehaltes und anderer von der Leber synthetisierter Gerinnungsfaktoren innerhalb von 12 Stunden nach der Galaktosamin-Applikation. Der Abfall der Gerinnungsfaktoren lag etwa in demselben Bereich wie wir ihn auch bei unseren Experimenten beobachten konnten. KRAUSE et al. (1972) fanden allerdings bei der Galaktosaminhepatitis des Kaninchens einen viel geringeren Abfall der Gerinnungsparameter. Dies ist möglicherweise dadurch bedingt, daß diese Autoren die gerinnungsanalytischen Untersuchungen in einem Zeitraum von 24 Stunden bis mehr als 48 Stunden nach der Galaktosamin-Applikation durchführten, so daß sich die geschädigte Leber möglicherweise wieder erholen konnte.

GRÜN et al. (1972) beschreiben nämlich einen Anstieg der abgefallenen plasmatischen Gerinnungsfaktoren ca. 48 Stunden nach der Galaktosamin-Gabe. Im Gegensatz zu GRÜN et al. (1972) konnten wir keine signifikante Abnahme der Thrombocytenzahlen bei der Galaktosaminhepatitis beobachten. Wurden allerdings die Thrombocytenzahlen der Tiere, die glomeruläre Mikrogerinnsel hatten, mit denen der Tiere ver-

glichen, bei denen kein Fibrin in der Niere nachgewiesen werden konnte, so ließen sich signifikante Unterschiede zeigen. Parallel mit der Entwicklung von glomerulären Mikrogerinnseln zeigte sich ein verstärkter Abfall der Thrombocytenzahlen, so daß die statistische Untersuchung signifikante Unterschiede ergab (MÜLLER-BERGHaus und REUTER 1972).

Bei akutem Leberzellschaden, der durch eine Virushepatitis (GALLUS et al. 1972) oder durch hepatotoxische Substanzen (CLARK et al. 1973) hervorgerufen wurde, konnten ebenfalls eine Abnahme der von der Leber synthetisierten Gerinnungsfaktoren und ein Abfall der Thrombocytenzahlen bei Patienten gemessen werden.

Um jedoch bei Vorliegen einer Synthesestörung infolge eines akuten Leberzellschadens zwischen Bildungstörung von Gerinnungsfaktoren und einer Umsatzsteigerung im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie unterscheiden zu können, wäre der Nachweis von fibrinreichen Mikrogerinnseln außerhalb der Leber von Bedeutung. Dieser Beweis einer abgelaufenen Verbrauchskoagulopathie bei akutem Leberzellschaden ist aber bis jetzt nicht erbracht worden. Es wurde bei Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff (RAKE et al. 1973) und durch Galaktosamin (GRÜN et al. 1972) lediglich Fibrin in den Lebersinusoiden der Ratte gefunden. Dies könnte aber durch eine lokale Freisetzung von thromboplastischem Material aus den nekrotischen Leberzellen erklärt werden.

Unsere Untersuchungen zeigten bei akutem Leberzellschaden infolge einer Galaktosaminhepatitis fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren des Kaninchens als morphologischen Beweis einer Verbrauchskoagulopathie. Drei von 10 Tieren, denen Galaktosamin infundiert worden war, hatten Fibrinablagerungen in der Niere.

Es interessierte die Frage, warum Fibrin nur bei einigen Tieren nachgewiesen werden konnte. Es ist bekannt, daß infolge einer Verbrauchskoagulopathie kompensatorisch eine Hyperfibrinolyse entsteht (MERSKEY et al. 1966, 1967), die gebildetes Fibrin wieder auflösen kann und es damit dem histologischen Nachweis entzieht (MARGARETTEN et al. 1964).

Außerdem könnte eine vermehrte fibrinolytische Aktivität bei akuten Lebererkrankungen auch dadurch bedingt sein, daß vermehrt Aktivatoren des fibrinolytischen Systems aus den geschädigten Leberzellen freigesetzt werden (VAN DE LOO 1965). RAKE et al. (1970) beobachteten bei Patienten mit akuter Leberzellnekrose einen verminderten Plasminogenspiegel und eine Zunahme von Fibrinabbauprodukten. Nach VAN DE LOO (1973) weist eine akute Hepatitis regelmäßig eine gesteigerte Fibrinolyse auf. Auch bei der Galaktosaminhepatitis der Ratte wurde eine erhöhte fibrinolytische Aktivität beobachtet (GRÜN et al. 1972). Die Bedeutung des fibrinolytischen Systems für die Beseitigung von Fibrin wird durch Untersuchungen von MARGARETTEN et al. (1964) erhellt. Diese Autoren führten bei Ratten Thrombininfusionen durch, um ein generalisiertes Schwartzman-Phänomen auszulösen. Unmittelbar nach Beendigung der Thrombininfusion konnte Fibrin in den Glomerulumkapillaren nachgewiesen werden. Eine Stunde später war jedoch kein Fibrin mehr zu finden, wenn die Tiere nach der Thrombininfusion überlebten.

Wurden die Ratten zusätzlich zur Thrombininfusion mit dem Antifibrinolyticum Epsilon-Aminocaprinsäure behandelt, so waren 24 Stunden später noch Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren zu sehen, die in einigen Fällen zu einer Nierenrindennekrose geführt hatten.

Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß GRÜN et al. (1972) keine glomerulären Mikrogerinnsel bei der Galaktosaminhepatitis nachweisen konnten, da bei Versuchen dieser Autoren das fibrinolytische System nicht gehemmt worden war. Ein Beweis für eine Verbrauchskoagulopathie konnte daher nicht erbracht werden.

Wir verabreichten deshalb Kaninchen, denen Galaktosamin infundiert wurde, das Antifibrinolyticum Epsilon-Aminocaprinsäure. Die Veränderungen der GPT, des Bilirubins und des Gerinnungssystems waren ähnlich stark ausgeprägt wie bei den Tieren, denen nur Galaktosamin verabreicht worden war. Obwohl durch eine Fibrinolyse nicht nur Fibrinpräzipitate, sondern auch die Faktoren Fibrinogen, Faktor V und VIII proteolytisch gespalten werden können (McKAY 1959), kam es bei

unseren Versuchen trotz der Blockierung des fibrinolytischen Systems zu einem noch stärkeren Abfall des Fibrinogengehaltes und der Faktor-V-Aktivität. Außerdem waren die Gerinnungstests, die von mehreren Gerinnungsfaktoren beeinflusst werden, wie die Partielle Thromboplastinzeit und das Thrombelastogramm, noch stärker pathologisch verändert. Dies zeigt, daß die Plasminempfindlichen Gerinnungsfaktoren nicht von fibrinolytischen Enzymen angegriffen worden waren. Es liegen jedoch Beobachtungen einer erhöhten lokalen fibrinolytischen Aktivität bei der Virushepatitis des Menschen vor (RAKE et al. 1970). Diese erhöhte lokale fibrinolytische Aktivität kann zu einem Abfall der Plasminempfindlichen Gerinnungsfaktoren beitragen.

Die histologische Untersuchung ergab eine Bestätigung unserer Vermutung, daß entstandenes Fibrin durch eine gesteigerte Fibrinolyse bei den Tieren, die ausschließlich Galaktosamin erhalten hatten, wieder aufgelöst worden war. Nach der Hemmung einer Fibrinolyse-Aktivierung zeigten 8 von 14 Kaninchen mit Galaktosaminhepatitis glomeruläre Mikrogerinnsel, während bei alleiniger Gabe von Galaktosamin nur 3 von 10 Tieren Fibrin in der Niere hatten. Im Gegensatz zu unseren Experimenten fanden RAKE et al. (1973) bei Ratten mit Leberzellschaden infolge einer Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung auch bei Applikation des Antifibrinolyticums Tranexamsäure keine fibrinreichen Mikrogerinnsel außerhalb der Leber. Das ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß diese Autoren das Antifibrinolyticum in einer einmaligen intraperitonealen Injektion verabreichten, während bei unseren Versuchen Epsilon-Aminocapronsäure über die ganze Versuchsdauer infundiert wurde. Eine einmalige intraperitoneale Gabe eines Antifibrinolyticums reicht nicht aus, um eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems über längere Zeit zu blockieren.

Damit war zusammen mit den gerinnungsanalytischen Befunden erwiesen, daß bei akutem Leberzellschaden infolge einer Galaktosaminhepatitis eine Verbrauchskoagulopathie bei Kaninchen auftreten kann. Antikoagulantien sind in der Lage, eine Verbrauchskoagulopathie zu unterbrechen bzw. zu verhindern (GOOD und THOMAS 1953, SHAPIRO

und McKAY 1958, LITTLE 1959, LASCH et al. 1961). Nach der Behandlung mit einem Antikoagulans z. B. Heparin kommt es bei Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie zu einem Anstieg der Gerinnungsfaktoren und der Thrombocytenzahlen. Deshalb sollte in einer dritten Versuchreihe geprüft werden, ob die beschriebenen Veränderungen im Gerinnungssystem bei der Galaktosaminhepatitis des Kaninchens durch eine Hemmung der Gerinnung mit Heparin verhindert werden können.

Die gerinnungsanalytischen Befunde konnten keinen Beweis eines Effektes der Heparinbehandlung auf die intravasale Gerinnung erbringen. Der Fibrinogengehalt sank etwa um denselben Betrag wie bei den Tieren, denen Galaktosamin ohne Hemmung der Gerinnung verabreicht worden war. Ebenso wenig konnte ein Einfluß der Heparinbehandlung auf die Thrombocytenzahlen beobachtet werden. GRÜN et al. (1972) konnten gleichfalls bei der Galaktosaminhepatitis der Ratte keinen Anstieg der Thrombocytenzahlen nach Heparinbehandlung feststellen. Möglicherweise ist dieses Verhalten der Thrombocytenzahlen dadurch zu erklären, daß Galaktosamin-Metaboliten durch eine Störung des Thrombocytenstoffwechsels neben einer Verbrauchsreaktion wenigstens teilweise für eine Abnahme der Thrombocytenzahlen verantwortlich sind. Galaktosamin selbst jedenfalls schien bei in vitro-Versuchen den Thrombocytenstoffwechsel nicht zu beeinträchtigen (GRÜN et al. 1972).

Die histologische Untersuchung ergab, daß bei den Kaninchen mit Galaktosaminhepatitis die Heparinbehandlung eine intravasale Gerinnung verhindert haben mußte. Von den 21 mit Galaktosamin und Heparin behandelten Tiere wies kein Kaninchen glomeruläre Mikrogerinnsel auf. Jedoch konnte die Behandlung der Tiere mit Heparin die morphologisch nachweisbare Schädigung der Leber nicht verhindern. In gleicher Weise wurde der pathologische Ausfall der Leberfunktionstests durch Heparinbehandlung nicht beeinflusst.

Damit ist bewiesen, daß die Entstehung der Mikrogerinnsel Folge eines intravasalen Gerinnungsprozesses ist. Die Befunde zeigen aber weiterhin, daß hauptsächlich eine Synthesestörung von Gerinnungspro-

teinen und weniger eine Umsatzstörung für die Aktivitätserniedrigung bei der Galaktosaminhepatitis verantwortlich ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß es im Rahmen eines akuten Leberzellschadens, der durch die Applikation des Aminozuckers D-Galaktosamin bei Kaninchen verursacht wurde, zur Ausbildung einer Verbrauchskoagulopathie kommen kann. Erst die histologische Untersuchung zusammen mit den Heparinexperimenten bewiesen die Verbrauchskoagulopathie, da die gerinnungsanalytischen Befunde alleine eine Unterscheidung zwischen Bildungsstörung und Umsatzstörung nicht erlaubten. Damit konnte die Hypothese bewiesen werden, daß die hämorrhagische Diathese infolge eines akuten Leberzellschadens nicht nur durch eine Bildungsstörung plasmatischer Gerinnungsfaktoren sondern auch durch eine Verbrauchskoagulopathie bedingt sein kann.

E Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte die Hypothese, daß eine Verbrauchs-koagulopathie zur hämorrhagischen Diathese bei akutem Leberschaden beitragen kann, bewiesen oder widerlegt werden. Die Untersuchungen wurden bei Kaninchen am experimentellen Modell der Galaktosaminhepatitis durchgeführt.

Folgende Befunde wurden erhoben:

1. Nach der Infusion von D-Galaktosamin kam es bei Kaninchen zu einem Leberschaden, der zu einer Erhöhung der GPT-Aktivität und des Gesamtbilirubingehaltes führte. Das Gerinnungspotential war durch eine signifikante Abnahme des Fibrinogengehaltes und der Prothrombin- und Faktor-V-Aktivität erniedrigt. Die Partielle Thromboplastinzeit und das Thrombelastogramm waren pathologisch. Von 10 mit Galaktosamin behandelten Tieren wiesen 3 Kaninchen fibrinreiche Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren der Niere auf. Dies stellt einen morphologischen Beweis für eine abgelaufene Verbrauchskoagulopathie dar.

2. Wurde das fibrinolytische System der Tiere, die eine Galaktosamininfusion erhalten hatten, mit Epsilon-Aminocaprinsäure blockiert, so waren die Veränderungen der GPT, des Bilirubins und des Gerinnungssystems ähnlich stark ausgeprägt wie bei den Tieren, die ausschließlich Galaktosamin erhalten hatten. Von den 14 mit Galaktosamin und Epsilon-Aminocaprinsäure behandelten Kaninchen wiesen 8 Tiere Fibrinablagerungen in der Niere auf. Demnach ist anzunehmen, daß eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems ein Persistieren der Fibringerinnsel bei Tieren mit Galaktosaminhepatitis, die nicht mit Epsilon-Aminocaprinsäure behandelt worden waren, verhindert.

3. Die Hemmung der Gerinnung durch Heparin bei Kaninchen mit Galaktosaminhepatitis zeigte keine Veränderung der Leberfunktion und der gerinnungsanalytischen Befunde gegenüber den Tieren, denen Galaktosamin ohne Hemmung der Gerinnung verabreicht worden war. Jedoch konnte bei der histologischen Untersuchung bei keinem von 21 mit Galaktosamin und Heparin behandelten Tieren Fibrinablagerungen in der Niere gefunden werden.

Die gerinnungsanalytischen Untersuchungen lassen es möglich erscheinen, daß eine Verbrauchskoagulopathie bei akutem Leberzellschaden durch D-Galaktosamin auftreten kann. Erst die histologische Untersuchung zusammen mit dem Heparinexperiment bewiesen die Verbrauchskoagulopathie.

F Literaturverzeichnis

- Adams, C. W. M. A p-dimethylaminobenzaldehyde-nitrite method for the histochemical demonstration of tryptophane and related compounds.
J. clin. Path. 10/1, 56 (1957)
- Alkjaersig, N.,
Fletcher, A. P.,
Sherry, S. ϵ -aminocaproic acid: an inhibitor of plasminogen activation.
J. biol. Chem. 234, 832 (1959)
- Benda, L., Gerlach, F.,
Rissel, E., Thaler, H. Über Untersuchungen zur Frage der Virusätiologie der Hepatitis epidemica.
Arch. ges. Virusforsch. 4, 89 (1949)
- Bohle, A.,
Krecke, H.-J. Über das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen (sog. generalisiertes Schwartzman-Phänomen) des Menschen.
Klin. Wschr. 37, 803 (1959)
- Brecher, G.,
Cronkite, E. P. Morphology and enumeration of human blood platelets.
J. appl. Physiol. 3, 365 (1950)
- Clark, R., Rake, M. O.,
Flute, P. T.,
Williams, R. Coagulation abnormalities in acute liver failure; pathogenic and therapeutic implications.
Scand. J. Gastroenterol. 8, Suppl. 19, 63 (1972)

- Decker, K.,
Keppler, D. Galactosamine-induced liver injury,
Progress in liver disease 4, 183
(1972) Popper, H. , Schaffner, F.
(Edts)
- Deutsch, E. Blood coagulation changes in liver
diseases.
Progress in liver disease, 2, 69
(1965) Popper, H., Schaffner, F.
(Edts)
- Donaldson, G.W.K. ,
Davies, S.H. , Darg, A. ,
Richmond, J. Coagulation factors in chronic liver
disease.
J. clin. Path. 22, 199 (1969)
- Gallus, A.S. ,
Lucas, C.R. ,
Hirsh, J. Coagulation studies in patients with
acute infectious hepatitis.
Brit. J. Haemat. 22, 761 (1972)
- Gitlin, D. , Craig, J.M. ,
Janeway, C.A. Studies on the nature of fibrinoid in
collagen diseases.
Amer. J. Path. 33, 55 (1957)
- Good, R.A. ,
Thomas, L. Studies on generalized Shwartzman
reaction. IV. Prevention of the local
and generalized Shwartzman reactions
with heparin.
J. Exper. Med. 97, 871 (1953)
- Grün, M. , Brunswig, D. ,
Mersch-Baumert, K. ,
Conradt, M. , Hörder, M.H. ,
Laun, A. , Liehr, H. ,
Kraus, H. , Richter, E. Gerinnungsstörungen bei der Galakto-
samin-Hepatitis der Ratte.
Acta Hepato-Gastroenterol. 19, 103
(1972)

- Hartert, H. Die Thrombelastographie, eine Methode zur physikalischen Analyse des Blutgerinnungsvorganges.
Z. ges. exp. Med. 117, 189 (1951)
- Jacobsson, K. Studies on fibrinogen. I. Studies on the determination of fibrinogen in human blood.
Scand. J. clin. Lab. Invest. Suppl. 7
(1955)
- Jendrassik, L., Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins.
Gröf, P. Biochem. Zschr. 297, 81 (1938)
- Keppler, D., Lesch, R., Experimental hepatitis induced by
Reutter, W., Decker, K. D-Galactosamine.
Exp. Mol. Path. 9, 279 (1968)
- Krause, W., Hey, D., Die Hämostase im Verlauf der Galak-
Leinweber, B. tosaminhepatitis.
Klin. Wschr. 50, 386 (1972)
- Lasch, H.G. Untersuchungen zur Dynamik im Sy-
stem der Blutgerinnungsfaktoren
("latente Gerinnung" in der Blutbahn).
Habil.-Schrift, Heidelberg (1959)
- Lasch, H.G., Krecke, H.J., Verbrauchs-koagulopathie (Pathoge-
Rodriguez-Erdmann, F., nese und Therapie).
Sessner, H.H., Folia Haemat. (Leipzig) 6, 325 (1961)
Schütterle, G.

- McKay, D. G. ,
Kliman, A. ,
Alexander, B. Experimental production of afibrinogenemia and hemorrhagic phenomena by combined fibrinolysis and disseminated intravascular coagulation. New Engl. J. Med. 261, 1150 (1959)
- McKay, D. G. Disseminated intravascular coagulation. An intermediary mechanism of disease. Hoeber, New York, Evanston, London (1964)
- McKay, D. G. ,
Müller-Berghaus, G. Therapeutic implications of disseminated intravascular coagulation. Amer. J. Cardiol. 20, 392 (1967)
- McKay, D. G. ,
Müller-Berghaus, G. Hageman factor (HF) and the generalized Shwartzman reaction (GSR). Fed. Proc. 27, 436 (1968)
- Medline, A. ,
Schaffner, F. ,
Popper, H. Ultrastructural features in Galactosamine induced hepatitis. Exp. Mol. Path. 12, 201 (1970)
- Merskey, C. ,
Kleiner, G. J. ,
Johnson, A. J. Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, realltion to diagnosis and treatment. Blood, 28, 1 (1966)
- Merskey, C. , Johnson, A. J. ,
Kleiner, G. J. , Wohl, H. The defibrination syndrome: clinical features and laboratory diagnosis. Brit. J. Haemat. 13, 528 (1967)

- Müller-Berghaus, G. Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. In: Disseminated intravascular coagulation. Transact. 17 th Am. Symp. Blood, Detroit 1969 (Stuttgart-New York 1969) S. 45, Mammen, E. F., Anderson, G. F., Barnhart, M. I. (Hrsg)
- Müller-Berghaus, G. Zur Pathophysiologie der Verbrauchs-koagulopathie. Bilb. haemat. 32, 257 (1969)
- Müller-Berghaus, G. Untersuchungen zum Auslösemechanismus des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens. Beitrag zur Pathogenese der Verbrauchs-koagulopathie. Habil.-Schrift, Gießen (1969)
- Müller-Berghaus, G. Pathophysiologie der manifesten generalisierten intravasculären Gerinnung. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttgart) Suppl. 50, 5 (1971)
- Müller-Berghaus, G., Reuter, C. Disseminated intravascular coagulation in Galactosamine-induced experimental hepatitis. Thrombos. Res. 1, 473 (1972)
- Pfau, P., Lasch, H. G., Günther, O. Sanarelli-Schwartzman-Phänomen bei febrilen Fehlgeburten und schweren Schock- und Blutungszuständen in der Geburtshilfe. Gynaecologia (Basel) 150, 17 (1960)

- Procter, R. R.,
Rapoport, S. I. The partial thromboplastin time with kaolin.
Amer. J. clin. Path. 36, 212 (1961)
- Rake, M. O., Flute, P. T.,
Pannell, G.,
Williams, R. Intravascular coagulation in acute hepatic necrosis.
Lancet 1, 533 (1970)
- Rake, M. O., Flute, P. T.,
Shilkin, K. B.,
Williams, R. Intravascular coagulation in acute hepatic necrosis: Clinical and experimental studies into the deposition of microthrombi and the effect of treatment.
Gut 12, 868 (1971)
- Rake, M. O., Flute, P. T.,
Pannell, G.,
Shilkin, K. B. Experimental hepatic necrosis: Studies on coagulation abnormalities, plasma clearance and organ distribution of ¹²⁵I-labelled fibrinogen.
Gut 14, 574 (1973)
- Reutter, W., Lesch, R.,
Keppler, D., Decker, K. Galaktosamin-Hepatitis.
Naturwissenschaften 55, 497 (1968)
- Reutter, W., Keppler, D.,
Decker, K. Zum Glykoproteidstoffwechsel bei der Galaktosamin-induzierten Hepatitis.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75, 363 (1969)
- Sanarelli, G. Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale.
Ann. Inst. Pasteur (Paris) 8, 193 (1894)

Van de Loo, J.

Leber und fibrinolytisches System.

In: Leber und Blutstillung, Antikoagulantien, Aggregationshemmer. Verh. dtsh. Arbeitsgem. Blutgerinnungsforsch. Bonn 1972 (Stuttgart-New York 1973) S. 77, Egli, H. , Beeser, H. (Hrsg)

Wroblewski, F. ,
La Due, J. S.

Serum glutamic-pyruvic transaminase
in cardiac und hepatic disease.
Proc. Soc. exp. biol. Med. 91, 569
(1956)

G Anhang: Einzelwerte der Untersuchungen

Bei der Angabe der Hämatokrit-, Fibrinogen- und Thrombocyten-Werte wurden die Verdünnung des Blutes mit Citratlösung (9 Teile Blut und 1 Teil Citratlösung) berücksichtigt.

0 : vor Versuchsbeginn

6 : 6 Stunden nach Versuchsbeginn

12 : 12 Stunden nach Versuchsbeginn

Gruppe A (GAL/—)

1. GPT-Werte (mU/ml)

2. Bilirubin-Werte (mg %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 3	16	61	71
CR 6	14	40	120
CR 8	13	33	34
CR 10	15	155	320
CR 12	23	230	460
CR 18	20	54	139
CR 22	11	111	142
CR 24	13	110	700
CR 53	17	181	182
CR 56	19	85	202

0	6	12
0,327	0,315	0,365
0,255	0,713	1,123
0,371	0,360	0,292
0,241	0,632	1,350
0,241	0,368	0,593
0,255	0,258	0,564
0,297	0,359	0,431
0,398	0,427	0,485
0,113	0,457	0,830
0,101	0,208	0,356

Mittelwert 16,1 106,0 237,0

0,2599 0,4097 0,6389

3. Hämatokrit (Vol. %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 3	31	29	25
CR 6	35	31	30
CR 8	32	30	28
CR 10	33	29	25
CR 12	33	31	26
CR 18	36	33	32
CR 22	30	30	28
CR 24	36	33	29
CR 53	28	24	22
CR 56	35	33	31
Mittelwert	32,9	30,3	27,6

4. Thrombocyten (x 1000/ μ l)

	0	6	12
	271,7	180,4	174,9
	455,4	333,3	200,2
	377,3	445,5	345,4
	398,2	181,5	243,1
	360,8	267,3	221,1
	257,4	266,2	207,9
	282,7	220,0	333,3
	222,2	169,4	119,9
	165,0	107,8	117,7
	168,3	204,6	75,9
	295,8	237,6	203,9

5. Fibrinogen (mg %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 3	115,9	104,7	89,7
CR 6	273,0	203,8	173,9
CR 8	291,7	230,0	213,1
CR 10	278,6	207,5	149,6
CR 12	166,4	130,9	95,3
CR 18	237,4	207,5	175,7
CR 22	269,2	228,1	198,2
CR 24	448,8	339,5	325,3
CR 53	278,6	172,0	145,8
CR 56	188,8	175,2	147,7
Mittelwert	254,8	199,9	171,4

6. Prothrombin (% Normalaktivität)

	0	6	12
	98	70	42,5
	94	41,5	13
	74	54	39,5
	115	40	25
	107	32,5	15,5
	100	41	15,5
	76	29,5	16
	100	44	35,5
	86	28	18
	82	42	18
	93,2	42,3	23,8

7. Faktor-V (% Normal-
aktivität)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 3	100	41	24
CR 6	100	36,5	1,8
CR 8	100	62	38
CR 10	100	155	26
CR 12	100	29	3,7
CR 18	100	100	11,5
CR 22	100	43	18
CR 24	100	52	40
CR 53	100	39	10,7
CR 56	100	52	7,4
Mittel- wert	100	61	18,1

8. PTT (sec.)

	0	6	12
	28,2	33,5	31,8
	20,6	26,8	48,8
	27,1	31,4	37,2
	45,4	65,1	50,8
	22,8	30,6	63,2
	27,4	31,9	51,5
	25,2	32,7	43,5
	24,6	25,5	28,4
	24,1	42,1	64,2
	30,2	29,1	53,6
	27,6	34,9	47,3

9. Maximale Amplitude im TEG (mm)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 3	53	47	42
CR 6	53	47	40
CR 8	55	50	50
CR 10	68	58	42
CR 12	52	45	37
CR 18	55	48	45
CR 22	52	46	44
CR 24	56	54	52
CR 53	60	35	40
CR 56	47	50	30
Mittel- wert	55,1	48,0	42,2

Gruppe B (GAL/EACA)

1. GPT (mU/ml)				2. Bilirubin (mg %)		
Tier-Nr.	0	6	12	0	6	12
CR 1	12	274	496	0,279	0,664	1,119
CR 2	29	306	303	0,378	0,981	1,401
CR 5	16	51	70	0,264	0,308	0,277
CR 21	12	46	42	0,172	0,250	0,541
CR 23	11	170	199	0,211	0,535	1,05
CR 25	15	64	129	0,238	0,297	0,375
CR 52	14	274	289	0,155	0,344	1,140
CR 55	25	83	269	0,226	0,131	0,470
CR 63	11	197	333	0,119	0,742	1,220
CR 64	12	68	180	0,250	0,606	1,160
Mittelwert	15,7	153,3	231,0	0,2292	0,4858	0,8759

3. Hämatokrit (Vol %)				4. Thrombocyten (x 1000/ μ l)		
Tier-Nr.	0	6	12	0	6	12
CR 1	27	24	22	248,6	77,0	90,2
CR 2	31	29	26	383,9	413,6	272,8
CR 5	32	28	25	320,1	181,5	145,2
CR 21	32	30	28	322,3	190,3	243,1
CR 23	34	32	28	299,2	88,0	89,1
CR 25	33	33	32	187,0	99,0	61,6
CR 52	32	30	29	236,5	68,2	50,6
CR 55	32	29	28	345,4	267,3	179,3
CR 63	31	31	31	157,3	100,1	107,8
CR 64	30	31	28	136,4	101,2	96,8
Mittelwert	31,4	29,7	27,7	263,6	158,6	133,6

5. Fibrinogen (mg %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 1	164,5	130,9	67,3
CR 2	183	129	80,4
CR 5	209,4	173,9	117,8
CR 21	265,5	226,2	205,7
CR 23	423,9	344,0	201,9
CR 25	187,0	160,8	63,5
CR 52	226,2	129,0	102,8
CR 55	198,2	172,0	129,0
CR 63	179,5	134,6	110,3
CR 64	185,1	157,0	130,9
Mittelwert	222,2	175,7	121

6. Prothrombin (% Normalaktivität)

0	6	12
98	30	12,2
105	23	17,5
82	40	19,5
82	42	30
94	30,5	20,5
78	38	15,5
86	19	14
83	44	16
107	32,5	20,5
102	52	18
97,7	35,1	18,4

7. Faktor-V (% Normalaktivität)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 1	100	41	1,4
CR 2	100	12	1,9
CR 5	100	54	10
CR 21	100	74	48
CR 23	100	41	6,4
CR 25	100	88	9,8
CR 52	100	26	7,2
CR 55	100	74	9,2
CR 63	100	56	27,5
CR 64	100	74	14
Mittelwert	100	54	13,5

8. PTT (sec.)

0	6	12
25,1	46,4	21,3
27,7	38,3	45,3
23,6	29,2	36,2
26,0	29,8	41,1
24,3	39,0	66,4
36,4	41,0	81,3
24,5	62,3	84,3
29,2	31,1	57,1
27,6	44,1	71,2
27,5	39,7	86,2
27,2	40,1	59,0

9. Maximale Amplitude im TEG (mm)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 1	53	39	14
CR 2	57	47	40
CR 5	53	43	39
CR 21	51	47	45
CR 23	61	42	35
CR 25	49	43	11
CR 52	53	27	27
CR 55	49	50	41
CR 63	49	33	23
CR 64	45	45	21
Mittelwert	52,0	41,6	29,6

Gruppe C (—/EACA)

1. GPT (mU/ml)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 4	23	25	21
CR 13	15	14	18
CR 14	8	8	9,5
CR 15	19	17	21
CR 16	14	16	15
CR 19	13	13	11
CR 20	19	18	17
CR 26	19	19	29
CR 65	8	8	8
CR 67	21	18	17

Mittelwert	15,9	15,6	16,7
------------	------	------	------

2. Bilirubin (mg %)

0	6	12
0,341	0,338	0,351
0,335	0,333	0,184
0,217	0,328	0,279
0,247	0,192	0,276
0,169	0,191	0,152
0,314	0,303	0,389
0,184	0,261	0,238
0,294	0,252	0,348
0,166	0,298	0,256
0,148	0,136	0,166

0,2415	0,2632	0,2639
--------	--------	--------

3. Hämatokrit (Vol %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 4	33	26	24
CR 13	35	31	31
CR 14	32	25	25
CR 15	28	23	23
CR 16	31	26	26
CR 19	31	30	24
CR 20	36	32	32
CR 26	34	25	25
CR 65	29	28	24
CR 67	31	28	26
Mittelwert	32,0	27,4	26,0

4. Thrombocyten (x 1000/ μ l)

	0	6	12
	222,2	195,8	185,9
	244,2	167,2	108,9
	353,6	251,9	137,5
	358,6	213,4	215,6
	138,6	119,9	141,9
	346,5	269,5	234,3
	300,3	202,4	203,5
	136,4	130,9	124,3
	221,1	177,1	154,0
	257,4	286,0	226,6
	257,8	201,5	173,4

5. Fibrinogen (mg %)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 4	231,9	222,5	234,1
CR 13	218,7	216,9	269,2
CR 14	205,7	228,1	269,2
CR 15	183,2	140,2	166,4
CR 16	164,5	132,7	149,6
CR 19	295,4	278,6	254,3
CR 20	284,2	269,2	321,6
CR 26	295,4	254,3	289,8
CR 65	194,4	194,4	160,8
CR 67	112,2	119,6	115,9
Mittelwert	218,6	205,7	223,1

6. Prothrombin (% Normalaktivität)

	0	6	12
	110	130	142,5
	89,5	87	105
	85	86	85
	107	105	112
	107	105	102,5
	113	112	100
	105	99	107
	115	112	80
	88	107	86
	99	105	100
	101,9	104,8	102,0

7. Faktor-V (% Normal-
aktivität)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 4	100	102	110
CR 13	100	92	64
CR 14	100	90	54
CR 15	100	66	76
CR 16	100	82	96
CR 19	100	165	117
CR 20	100	130	165
CR 26	100	135	125
CR 65	100	125	110
CR 67	100	105	100
Mittel- wert	100	109,2	101,7

8. PTT (sec.)

	0	6	12
	26,2	25,3	25,6
	24,8	26,1	27,0
	27,1	26,0	30,5
	27,8	30,8	28,9
	17,4	24,9	22,9
	24,4	23,4	23,2
	27,9	30,4	28,8
	26,1	26,3	33,5
	29,4	28,6	28,9
	31,4	30,5	31,7
	26,3	27,2	28,1

9. Maximale Amplitude im TEG (mm)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 4	56	50	48
CR 13	52	46	50
CR 14	60	57	53
CR 15	56	50	51
CR 16	51	44	47
CR 19	51	53	55
CR 20	53	53	53
CR 26	60	57	52
CR 65	55	50	49
CR 67	48	51	50
Mittel- wert	54,2	51,1	50,8

Gruppe D (GAL/HEP)

1. GPT (mU/ml)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 29	13	177	210
CR 30	15	125,5	190
CR 33	16	42,5	41
CR 35	17	220	850
CR 37	17	17	17
CR 39	13	23	54
CR 42	18	81	309
CR 46	11	246	496
CR 48	17	34	58
CR 59	13	286	413
Mittelwert	15,0	125,2	263,8

2. Bilirubin (mg %)

	0	6	12
	0,128	0,684	0,963
	0,294	0,485	0,742
	0,162	0,247	0,503
	0,029	0,071	0,167
	0,246	0,212	0,264
	0,071	0,178	0,464
	0,149	0,315	0,446
	0,279	0,785	1,509
	0,088	0,285	0,434
	0,148	0,268	0,416
	0,1594	0,3530	0,5908

3. Thrombocyten (x 1000/ μ l)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 29	284,9	273,9	266,2
CR 30	198,0	151,8	177,1
CR 33	182,6	236,5	223,3
CR 35	481,8	305,8	269,5
CR 37	287,1	179,3	235,4
CR 39	325,6	346,5	276,1
CR 42	216,7	218,9	161,7
CR 46	171,6	145,2	132,0
CR 48	247,5	232,1	209,0
CR 59	256,3	72,6	148,5
Mittelwert	265,5	216,4	209,9

4. Fibrinogen (mg %)

	0	6	12
	359,0	301,0	244,9
	220,6	187,0	144,1
	220,6	196,3	162,6
	284,2	230,0	157,0
	342,2	235,6	187,0
	306,6	237,4	185,1
	173,9	140,2	114,0
	226,2	168,3	115,9
	213,1	153,3	112,2
	224,4	194,4	127,1
	257,1	204,4	155,0

Gruppe E (GAL/EACA/HEP)

1. GPT (mU/ml)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 34	16	132	145
CR 36	15	44	70
CR 38	9	62	99
CR 41	13	155	142
CR 43	17	166,5	146
CR 45	12	75	106
CR 58	13	130,5	162
CR 68	26,5	138	156
CR 72	8	20	62
CR 76	14	116	230
CR 77	17	112	170
Mittelwert	14,6	104,6	135,3

2. Bilirubin (mg %)

0	6	12
0,262	0,410	0,446
0,011	0,175	0,750
0,137	0,565	0,998
0,113	0,558	0,895
0,368	0,547	0,630
0,238	0,926	1,67
0,172	0,327	0,786
0,22	0,564	0,832
0,247	0,547	0,713
0,232	0,407	0,615
0,220	0,852	1,241
0,2018	0,5343	0,8705

3. Thrombocyten (x 1000/ μ l)

Tier-Nr.	0	6	12
CR 34	424,6	283,8	260,7
CR 36	194,7	50,6	177,1
CR 38	332,2	221,1	214,5
CR 41	202,4	200,2	158,4
CR 43	162,8	35,2	35,2
CR 45	180,4	144,1	161,7
CR 58	249,7	70,4	106,7
CR 68	330,0	305,8	280,5
CR 72	286,0	141,9	136,4
CR 76	184,8	181,5	196,9
CR 77	215,6	136,4	127,6
Mittelwert	251,3	161,0	168,8

4. Fibrinogen (mg %)

0	6	12
291,7	239,3	185,1
222,5	157,0	84,1
153,3	114,0	72,9
164,5	125,2	80,4
278,6	211,3	136,5
246,8	172,0	108,4
194,4	149,6	61,7
194,4	153,3	143,9
274,8	194,4	149,6
224,4	170,2	155,2
276,8	211,3	187,0
229,3	172,5	124,1

Herrn Prof. Dr. G. Müller-Berghaus möchte ich ganz herzlich danken für die Anregung zu dieser Arbeit und die Hilfe, die er mir bei der Durchführung gewährte. Seine stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft waren vorbildlich.

Lebenslauf

Am 4. Mai 1950 wurde ich, Clemens Reuter, als dritter Sohn des Postbeamten Clemens Reuter und seiner Frau Betty, geb. Böhm, in Heldenbergen, Krs. Friedberg in Hessen geboren. Von 1956 bis 1960 besuchte ich die Volksschule in Heldenbergen (jetzt: Nidderau 1), von 1960 bis 1968 das neusprachliche Gymnasium der Augustinerschule in Friedberg/Hessen. Dort legte ich am 19. 6. 1968 die Reifeprüfung ab. Am 11. 10. 1968 immatrikulierte ich mich an der Justus Liebig-Universität Gießen für das Studienfach Humanmedizin. Am 9. 7. 1974 bestand ich die ärztliche Prüfung. Die experimentellen Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit führte ich von März 1972 bis Mai 1973 aus.

